

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ
2-METHOXY-5-NITROFENOLU
NA NETRADIČNÍCH ELEKTRODÁCH

Voltammetric Determination of 2-Methoxy-5-nitrophenol at Nontraditional Electrodes



DIPLOMOVÁ PRÁCE
studijního oboru Chemie životního prostředí

Praha 2010

Michala Charvátová

Tato diplomová práce byla finančně podporována MŠMT ČR (projekty RP 14/63, LC 06035 a MSM 0021620857) a GAČR (projekt P 206/10/P087).

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele RNDr. Jana Fischera, Ph.D., a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 30.4. 2010

Chtěla bych poděkovat svému školiteli RNDr. Janu Fischerovi, Ph.D. za odborné vedení a dále také všem členům Katedry analytické chemie za všestrannou pomoc a cenné připomínky k mé práci.

Současně bych ráda poděkovala i Mgr. Vlastimilu Vyskočilovi a Mgr. Ivanovi Jiránkovi za vřelý přístup a ochotu, se kterou mi poskytovali pomoc.

V neposlední řadě děkuji celé rodině a přátelům za podporu během studia.

Předmětová hesla: Nitrofenol

Regulátor růstu

Voltametrie

Mechanismus

Pevné amalgámové elektrody

Klíčová slova: 2-methoxy-5-nitrofenol

DC voltametrie, Diferenční pulzní voltametrie

Adsorpční rozpouštěcí voltametrie, Cyklická voltametrie

Extrakce tuhou fází

Meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda

Uhlíková filmová elektroda

Abstrakt

Voltametrické stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu bylo studováno DC voltametrií (DCV) a diferenční pulzní voltametrií (DPV) na uhlíkové filmové elektrodě (CFE) a meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě (m-AgSAE). Byly nalezeny podmínky pro jeho stanovení pomocí DCV a DPV na CFE v Brittonově – Robinsonově pufru v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-4}$ až $1 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹. Použitím adsorpční rozpouštěcí voltametrie (AdSV) na m-AgSAE v Brittonově – Robinsonově pufru o pH 2,0 byla látka stanovena v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-7}$ mol.l⁻¹ s mezí stanovitelnosti $3,6 \cdot 10^{-7}$ mol.l⁻¹. Po užití kombinace DPV s extrakcí tuhou fází (SPE) pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu v říční vodě byla dosažena mez stanovitelnosti $6,6 \cdot 10^{-8}$ mol.l⁻¹. Použitím cyklické voltametrie (CV) na m-AgSAE a CFE byl navržen mechanismus elektrochemické redukce 2-methoxy-5-nitrofenolu.

Abstract

Voltammetric determination of 2-methoxy-5-nitrophenol was studied using DC voltammetry (DCV) and differential pulse voltammetry (DPV) at a carbon film electrode (CFE) and a meniscus modified silver solid amalgam electrode (m-AgSAE). Conditions were found for its determination by DCV and DPV at CFE in Britton - Robinson buffer within concentration range $1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹. Using adsorptive stripping voltammetry (AdSV) m-AgSAE in Britton - Robinson buffer pH 2,0 compound this determined in the concentration range $(2 - 10) \cdot 10^{-7}$ mol.l⁻¹ with a limit of detection $3,6 \cdot 10^{-7}$ mol.l⁻¹. Using a combination of DPV with solid phase extraction (SPE) for determination of 2-methoxy-5-nitrophenol in river water, limit of detection $6,6 \cdot 10^{-8}$ mol.l⁻¹ was obtained. Using cyclic voltammetry (CV) at m-AgSAE and at CFE mechanism of electrochemical reduction 2-methoxy-5-nitrophenol was proposed.

Obsah

1	Úvod	9
1.1	Cíl práce	10
1.2	Voltametrické s tanovení 2 -methoxy-5-nitrofenolu na stříbrné amalgámové elektrodě	10
1.3	Studovaná látka	13
1.4	Použité metody	14
1.4.1	DC voltametrie	14
1.4.2	Diferenční pulzní voltametrie	15
1.4.3	Adsorpční rozpouštěcí voltametrie	15
1.4.4	Cyklická voltametrie	16
1.4.5	Extrakce tuhou fází	17
1.5	Pracovní elektrody	18
1.5.1	Amalgámová elektroda	18
1.5.2	Uhlíková filmová elektroda	19
2	Experimentální část	20
2.1	Reagencie	20
2.2	Aparatura	20
2.3	Pracovní elektrody	21
2.3.1	Meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda	21
2.3.2	Uhlíková filmová elektroda	21
2.4	Pracovní postupy	22
2.5	Stálost zásobního roztoku studované látky	25
3	Adsorpční rozpouštěcí voltametrie 2-methoxy-5-nitrofenolu na m eniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě	27
4	Předběžná separace 2-methoxy-5-nitrofenolu extrakcí tuhou fází z modelových vzorků vody	32
4.1	Extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu tuhou fází z destilované vody	32
4.2	Extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu tuhou fází z říční vody	38
5	Cyklická voltametrie 2 -methoxy-5-nitrofenolu na m eniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě	43
6	Voltametrické s tanovení 2 -methoxy-5-nitrofenolu na uhl íkové filmové elektrodě	49

6.1	DC v oltametrie 2 -methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě v anodické oblasti	49
6.1.1	Vliv pH	49
6.1.2	Koncentrační závislost	52
6.2	DP v oltametrie 2 -methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě v anodické oblasti	56
6.2.1	Vliv pH	56
6.2.2	Koncentrační závislost	59
7	DC v oltametrie 2 -methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě v katodické oblasti	63
7.1.1	Vliv pH	63
7.1.2	Koncentrační závislost	66
8	DP v oltametrie 2 -methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě v katodické oblasti	70
8.1.1	Vliv pH	70
8.1.2	Koncentrační závislost	73
9	Cyklická v oltametrie 2 -methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě	77
10	Souhrn	81
11	Literatura	83

Seznam použitých symbolů a zkratek

A	absorbance
AdSV	adsorpční rozpouštěcí voltametrie
BR pufr	Brittonův – Robinsonův pufr
c	molární koncentrace látky
C.A.S.	Chemicals Abstract Services
CFE	uhlíková filmová elektroda
CV	cyklická voltametrie
DCV	DC voltametrie
DPV	diferenční pulzní voltametrie
E_{acc}	akumulační potenciál
E_{in}	kladnější regenerační potenciál
E_{fin}	zápornější regenerační potenciál
E_p	potenciál píku
E_v	potenciál vlny
I_p	proud píku
I_v	proud vlny
LOD	mez stanovitelnosti
m-AgSAE	meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda
N	pořadové číslo měření
SPE	extrakce tuhou fází
t_{acc}	doba akumulace
v	rychlost polarizace
λ	vlnová délka

1 Úvod

Aromatické nitrosloučeniny jsou významnou skupinou toxických a karcinogenních kontaminantů životního prostředí, které představují značný rizikový faktor pro zdraví lidské populace. Již od konce 70. let je zřejmé, že jsou přítomny ve všech složkách životního prostředí.¹⁻³ Nitroderiváty jsou významnou součástí výfukových plynů a vzdušných prachových částic, na jejichž povrch jsou adsorbovány.^{1,4} Byly rovněž detekovány v říční vodě.^{1,5} Jejich obsah v životním prostředí vzrůstá především proto, že vznikají z oxidů dusíku produkovaných všemi vysokoteplotními procesy (spalování fosilních paliv, tepelná likvidace odpadů, zpracování kovů) a dalších vzdušných polutantů a polycyklických uhlovodíků⁶⁻⁷, ty provázejí silnou automobilovou dopravu. Přítomny jsou rovněž v cigaretovém kouři a vznikají i při úpravě některých potravin, např. grilováním masných výrobků.^{1,2}

Fenoly, jejich deriváty a nitroaromatické sloučeniny jsou všude přítomné kontaminanty, které jsou v elkém zájmu v oblasti environmentální analýzy. Dostávají se do životního prostředí jako odpady, pesticidy, výbušniny nebo jsou tvořeny fotochemickými a atmosférickými reakcemi.⁸⁻⁹ Fenolické sloučeniny vypouštěné do přírodních vod a půdy mají významný dopad na lidské zdraví a životní prostředí, protože jsou toxické, bioakumulovatelné a dokonce i při koncentraci pod $1\mu\text{g.l}^{-1}$ mohou ovlivnit kvalitu vody.⁸ Proto je stanovení těchto druhů sloučenin velice významné.

Tato diplomová práce byla vypracována v rámci širšího projektu, který probíhá na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Tento výzkum se zabývá s tudie elektrochemického chování karcinogenních a toxických látek. Cílem tohoto výzkumu je vypracovat nové metody stanovení těchto látek pomocí moderních polarografických a voltametrických metod. Tyto metody by mohly tvořit vzhledem k nízkým pořizovacím i provozním nákladům alternativu k doposud převážně používaným metodám chromatografickým a spektrofotometrickým.

1.1 Cíl práce

Tato diplomová práce se zabývá studiem elektrochemického chování 2-methoxy-5-nitrofenolu a nalezením optimálních podmínek pro jeho stanovení s cílem dosáhnout co nejnižší meze stanovitelnosti.

Konkrétně byla věnována pozornost diferenční pulzní voltametii (DPV) a DC voltametii (DCV) na uhlíkové filmové elektrodě (CFE) a na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě (m-AgSAE).

Dále byla zkoumána možnost dosáhnout nižšího limitu detekce za použití adsorpční rozpouštěcí voltametrie (AdSV) a pomocí předběžné separace a prekoncentrace tuhou fází (SPE).

Závěrem byl učiněn pokus objasnit mechanismus elektrochemické reakce 2-methoxy-5-nitrofenolu použitím cyklické voltametrie (CV).

1.2 Voltametrické stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu na stříbrné amalgámové elektrodě¹⁰

Tato práce volně navazuje na bakalářskou práci¹⁰, v rámci které bylo prozkoumáno chování 2-methoxy-5-nitrofenolu při DC voltametii a DP voltametii na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě.

Při DC voltametii (Obr. 1A) byly nalezeny optimální podmínky pro jeho stanovení v koncentračních rozmezích $1 \cdot 10^{-4}$ až $1 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹. V BR pufru o pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $1,7 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹ a BR pufru o pH 6,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $5,4 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹. V říční vodě upravené BR puftrem na pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $6,7 \cdot 10^{-7}$ mol.l⁻¹ a při pH 6,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $2,9 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹. V pitné vodě upravené BR puftrem na pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $5,3 \cdot 10^{-7}$ mol.l⁻¹. Při pH 6,0 v pitné vodě se nepodařilo změřit kalibrační závislosti, protože signál nečistot kolidujících se sledovanou vlnou látky ovlivňoval výsledky měření.

Při DP voltametii (Obr. 1B) byly nalezeny optimální podmínky pro jeho stanovení v koncentračních rozmezích $1 \cdot 10^{-4}$ až $1 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹. V BR pufru o pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $3,4 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹ a BR pufru o pH 6,0 bylo dosaženo

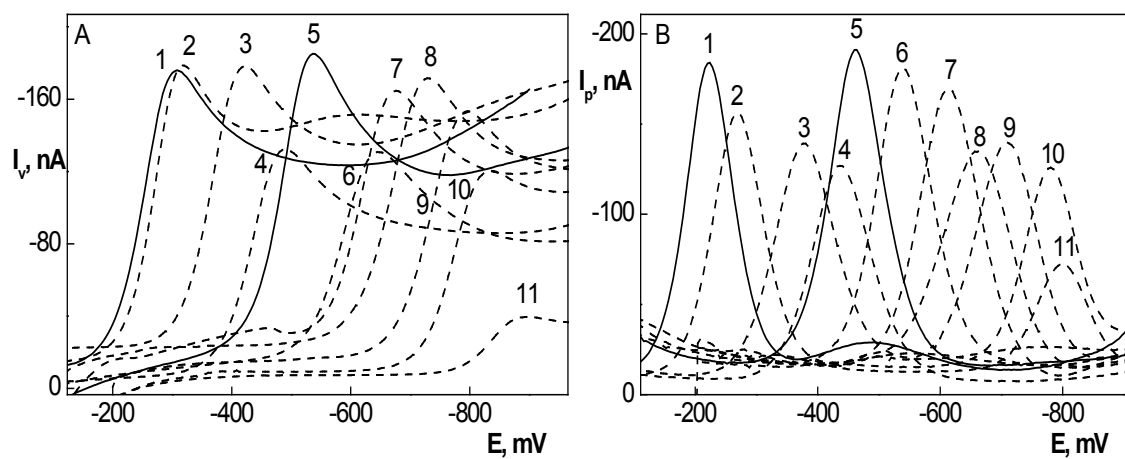
meze stanovitelnosti $1,3 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$. V říční vodě upravené BR pufrům na pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $1,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ a při pH 6,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $6,5 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. V pitné vodě upravené BR pufrům na pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $1,3 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ a při pH 6,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $2,7 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$.

Srovnání použitých metod a dosažených výsledků jsou uvedeny v Tab. 1

Tab. 1

Srovnání použitých metod a dosažených výsledků pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu na m-AgSAE.

<i>Metoda</i>	<i>pH BR pufru</i>	<i>Matrice</i>	<i>LOD [mol.l⁻¹]</i>
DCV	2,0	Destilovaná voda	$1,7 \cdot 10^{-6}$
	2,0	Říční voda	$6,7 \cdot 10^{-7}$
	2,0	Pitná voda	$5,3 \cdot 10^{-7}$
	6,0	Destilovaná voda	$5,4 \cdot 10^{-6}$
	6,0	Říční voda	$2,9 \cdot 10^{-6}$
	6,0	Pitná voda	—
DPV	2,0	Destilovaná voda	$3,4 \cdot 10^{-6}$
	2,0	Říční voda	$1,9 \cdot 10^{-6}$
	2,0	Pitná voda	$1,3 \cdot 10^{-6}$
	6,0	Destilovaná voda	$1,3 \cdot 10^{-6}$
	6,0	Říční voda	$6,5 \cdot 10^{-7}$
	6,0	Pitná voda	$2,7 \cdot 10^{-6}$



Obr. 1

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené metodou DCV (A) a DPV (B) na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1); pH 3,0 (2); pH 4,0 (3); pH 5,0 (4); pH 6,0 (5); pH 7,0 (6); pH 8,0 (7); pH 9,0 (8); pH 10,0 (9); pH 11,0 (10); pH 12,0 (11). Převzato z bakalářské práce.¹⁰

1.3 Studovaná látka

2-methoxy-5-nitrofenol je žlutá krystalická látka, dobře rozpustná ve vodě. Zápach je lehce fenolický. Nepříznivé účinky na zdraví člověka a na životní prostředí při používání látky nejsou známy.¹¹

Je průmyslově vyráběna jako rostlinný stimulátor určený pro rychlejší regeneraci poškozených kultur a ke zvyšování výnosu a kvality rostlinných produktů. Ovlivňuje pohyb plasmy v buňkách rostlin, což se projevuje lepším zakořeňováním, lepším příjmem živin a intenzivnějším růstem. Aplikace před květem významně ovlivňuje klíčení pylových zrn, má pozitivní vliv na násadu plodů, semen a jejich lepší vyžrání. Látka pomáhá rostlinám překonávat stres (po negativním působení některých pesticidů, po poškození rostlin mrazem, krupobitím, přesazením apod.).¹²

Hlavním mechanismem účinnosti látky je podpora proudění buněčných šťáv. Ošetřené rostliny jsou schopny rychleji reagovat na nepříznivé vlivy. Fenolické látky přímo působí na lignifikaci buněčných stěn a tím zvyšují mechanickou odolnost pletiv. Ošetřené rostliny jsou odolnější k napadení houbovými chorobami, poléhání, zvyšuje se pevnost a skladovatelnost produkce.¹³ Při nesprávném použití, např. při aplikaci vyšší než povolené dávky na ošetřovanou plochu, může dojít ke zbrzdění růstu plodin.¹¹

V obchodech se prodává v růstovém stimulátoru Atonik. Přípravek neobsahuje přímo 2-methoxy-5-nitrofenol, ale jeho sodnou sůl. Dalšími účinnými látkami v tomto přípravku jsou sodné soli 2-nitrofenolu a 4-nitrofenolu.¹⁴

Z elektrochemických metod byla látka doposud stanovena pomocí DPV a DCV na m-AgSAE¹⁰, metodou DPV na visící rtuťové kapkové elektrodě (HMDE) a AdSV¹⁵ a pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s elektrochemickou detekcí na stříbrné pevné amalgámové elektrodě (AgSAE).¹⁶

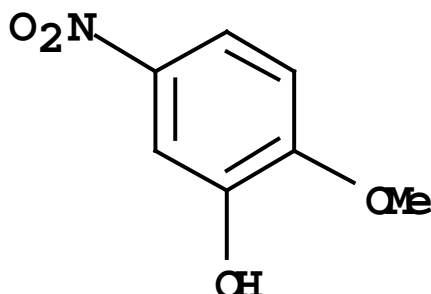
Pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu byla také popsána řada dalších analytických metod např. plynová chromatografie^{17 – 20}, mikroextrakce pevnou fází^{21 – 25}, kapalinová extrakce²⁶, vysokoúčinná kapalinová chromatografie²⁷ a UV spektrometrie.²⁷

CAS number: 636-93-1

Strukturní vzorec: $C_7H_7NO_4$

CAS name: Phenol, 2-methoxy-5-nitro-

Další názvy: Guaiacol



2-Hydroxy-4-nitroanisole

2-Methoxy-5-nitrophenol

3-Hydroxy-4-methoxynitrobenzene

3-Nitro-6-methoxyphenol

4-Nitro-2-hydroxyanisole

5-Nitroguaiacol

Obr. 2 Strukturní vzorec 2-methoxy-5-nitrofenolu.

1.4 Použité metody

Snadné elektrochemické redukce nitrosloučenin a v mnoha případech také výrazné adsorpční vlastnosti aromatických sloučenin umožňují použití moderních metod stopové analýzy jako jsou diferenční pulzní voltametrie (DPV) a DC voltametrie (DCV).^{28 – 31}

Voltametrie je metoda, při níž se sleduje závislost proudu procházejícího pracovní elektrodou ponořenou v analyzovaném roztoku na potenciálu, který se na tuto elektrodu vkládá z vnějšího zdroje. V této souvislosti se používají dva základní pojmy: Je to potenciálový program, což je závislost potenciálu vkládaného na pracovní elektrodu na čase, a proudová odezva, což je závislost měřeného proudu procházejícího pracovní elektrodou na vkládaném potenciálu.

1.4.1 DC voltametrie

Při DC voltametii (DCV) se potenciál vkládaný na pracovní elektrodu lineárně s časem mění (roste či klesá). Rychlost změny potenciálu je dostatečně malá ve srovnání s rychlostí ustavování rovnováhy na elektrodě, takže lze metodu považovat za stacionární při konstantním potenciálu. Je registrován proud měřený při vloženém potenciálu.^{32 – 34}

1.4.2 Diferenční pulzní voltametrie

DP voltametrie (DPV) má s polus diferenční pulzní polarografií (DPP) z pulzních metod v současné době pro praktickou elektroanalytickou chemii největší význam. Při této metodě se na potenciál, který se lineárně mění s časem, vkládá napěťový pulz o amplitudě 10 až 100 mV a době trvání řádově desítek milisekund. Registruje se rozdíl proudů změřených těsně před vložením pulzu a na jeho konci.^{32 – 34}

DP voltametrií je možno většinou stanovovat nižší koncentrace látek a lze vedle sebe stanovovat látky lišící se podstatně méně v půl vlnových potenciálech než je tomu při DC voltametrii.

1.4.3 Adsorpční rozpouštěcí voltametrie

Při adsorpční rozpouštěcí voltametrii (AdSV) se stanovení elektroaktivních složek směsi provádí po jejich předchozím nahromadění adsorpcí na povrchu pracovní elektrody.

Adsorpční nahromadění látky ze zředěného roztoku se uskutečňuje při konstantním potenciálu. Roztokem se během akumulace míchá, aby se urychlil přenos látky z roztoku k elektrodě. Po určité době se míchání přeruší, takže proud klesne až na hodnotu stacionárního difúzního proudu. Po určité době akumulace se zahájí lineární změna potenciálu a zaznamená se odpovídající křivka.^{35 – 36}

1.4.4 Cyklická voltametrie

Cyklická voltametrie (CV) je jednou z es tandardních el ektochemických technik, která je velmi často používána pro studium základních elektrochemických procesů a chování studujících látek.^{37 – 39}

Při CV je registrována závislost proudu v obvodu mezi pracovní a pomocnou elektrodou na napětí vkládaném mezi pracovní a referenční elektrodou. Vkládané napětí se mění s časem, nejprve lineárně vzrůstá do určité hodnoty a pak lineárně klesá zpět. V první části experimentu tedy probíhá reakce v jednom směru (např. $\text{Ox} + n\text{e}^- \rightarrow \text{Red}$) a při druhé části jsou produkty elektrodové reakce převáděny zpět na výchozí látky (např. $\text{Red} + n\text{e}^- \rightarrow \text{Ox}$).⁴⁰

Přímé analytické využití CV je omezené, hlavní význam má CV při studiu elektrodových reakcí. Každé elektrodové reakci odpovídá na polarizační křivce jeden proudový pík. Z průběhu katodických a anodických křivek lze usuzovat mechanismus elektrodové reakce, např. posuzovat reverzibilitu děje.

Jedná-li se o reverzibilní reakci, je rozdíl potenciálu anodického a katodického maxima píku společně s dalšími potenciálovými charakteristikami nezávislý na rychlosti změny potenciálu. Výška píku je difúzně řízeného děje přímo úměrná druhé odmocnině rychlosti změny potenciálu a to jak pro děj reversibilní, tak i děj ireversibilní.³³

U ireverzibilních dějů závisí rozdíl potenciálů maxima anodického a katodického píku na rychlosti změny polarizace, dále na hodnotě rychlostní konstanty a hodnotě koeficientu přenosu náboje.³²

Přímá úměra platí mezi výškou píku a odmocninou z rychlosti polarizace pouze u dějů, které jsou řízeny difúzí. U dějů kontrolovaných adsorpcí, při nichž je elektrochemicky přeměňována látka adsorbována na povrchu pracovní elektrody, je výška píku přímo úměrná rychlosti polarizace.

1.4.5 Extrakce tuhou fází

Extrakce tuhou fází (SPE) umožňuje rozdělení analytu mezi dvě nemísitelné fáze, z nichž jedna je tuhá. Do tuhé fáze přechází analyt z plynné nebo kapalné fáze.

V roztoku se rozmíchá určité množství tuhého absorbentu nebo je roztok vzorku proléván sloupcem sorbentu. Absorbent se po té oddělí od roztoku a analyt se z něj uvolní teplem či vymytím vhodným roztokem.

Tato metoda je nejčastěji používána pro odstranění rušivých složek matrice, selektivní obohacení (zakoncentrování) vzorku, izolaci malých množství látek a ke změně rozpouštědla vzorku.⁴¹

Výhodou je velmi jednoduchá práce s kolonkou, nízká spotřeba organických rozpouštědel, snadná automatizace. Nevýhoda je, že pro některé separace nejsou na trhu vhodné extrakční kolonky.

1.5 Pracovní elektrody

1.5.1 Amalgámová elektroda

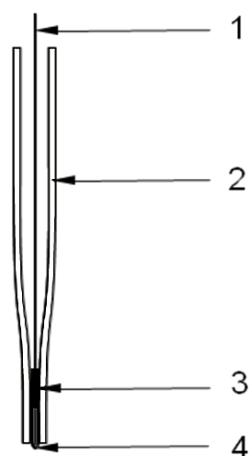
Amalgámové elektrody jsou používány už řadu let. Historicky se navazuje na dříve popsané elektrody tvořené kapičkami rtuti na stříbrném drátku.

V současné době může být nasycená tuhá amalgáma vytvářena i např. na stříbrné plošce (diskové Ag-elektrodě), nebo amalgamací příslušného prášku (eventuelně pudru, pilin). Elektroda může mít přitom např. formu disku či menisku, apod. Vedle stříbrných amalgámů jsou studovány i amalgámy jiných kovů např. mědi či zlata.^{42 – 43}

Stříbrná amalgámová elektroda byla dosud použita ke stanovení kovů v odpadních vodách a rudách a ke stanovení některých aniontů (NO_3^-). Také organické látky byly testovány např. nitrobenzen, nitrofenoly, toluen ve vodných roztocích, ale i řada dalších látek.⁴⁴

Stříbrná pevná amalgámová elektroda (AgSAE) je vhodnou alternativou k visící rtuťové kapkové elektrodě (HMDE). Existují tři druhy AgSAE lišící se povrchem: meniskem modifikovaná (m-AgSAE), filmová (MF-AgSAE) a leštěná (p-AgSAE) elektroda, která neobsahuje kapalnou rtuť.^{44 – 45}

V této práci byla použita meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda (m-AgSAE), která poskytuje dobře reprodukovatelné výsledky.



Obr. 3

Meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda: elektrický kontakt (1); skleněná kapilára (2); tuhý Ag amalgám (3); meniskus (4).

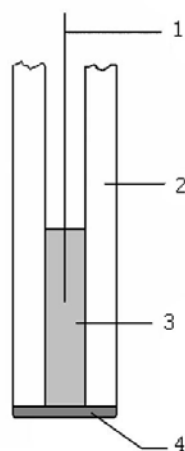
1.5.2 Uhlíková filmová elektroda

Jako uhlíková filmová elektroda (CFE) je označován uhlíkový film nanesený na pevnou elektrodu (v tomto případě leštěnou pevnou stříbrnou amalgámovou elektrodu (p – AgSAE) ⁴³ s níž je vodivě spojen. Pevná elektroda zde slouží pouze jako vodič a elektrochemické vlastnosti elektrody jsou dány uhlíkovým materiálem filmu.

Uhlíkový film je vytvořen s močením povrchu pevné elektrody v uhlíkovém inkoustu, který obsahuje uhlíkový prášek, polystyren a rozpouštědlo s relativně vysokou teplotou. Inkoust, který se zachytí na povrchu elektrody po vypaření rozpouštědla vytvoří film.

Mezi výhody této elektrody patří přednosti použitého elektrodového materiálu (uhlíku): V široké potenciálové oblasti v anodické i katodické oblasti (cca 3 V), vysoká citlivost a nízký šum měření. Velkou výhodou této elektrody je také rychlá a snadná obnovitelnost filmu, fakt, že elektroda je schopná po lehkém upravení pod mínek vykazovat vlastnosti mikroelektrody a v neposlední řadě ekonomická nenáročnost a nízká zátěž pro životní prostředí. ⁴⁶ Tato elektroda může totiž sloužit jako náhrada za síťotiskové elektrody na jedno použití.

Dosud byla uhlíková filmová elektroda (film obsahoval 90% uhlíku C R 2) použita např. ke stanovení guaninu a adeninu založeném na jejich elektrochemické oxidaci. Vzhledem k úzkému anodickému oknu r tu ti nel ze t yto l átky s tanovit na rtuťové či amalgámové elektrodě. ^{47 – 48}



Obr. 4

Uhlíková filmová elektroda: elektrický kontakt (1); skleněná kapilára (2); tuhý Ag amalgám (3); uhlíkový film (4).

2 Experimentální část

2.1 Reagencie

Zásobní roztok o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,00846 g 2-methoxy-5-nitrofenolu v 50 ml destilované vody za pomoci ultrazvuku. Roztoky o nižších koncentracích pro měření kalibračních závislostí, byly připraveny přesným ředěním z zásobního roztoku destilovanou vodou. Všechny roztoky byly uchovávány při laboratorní teplotě ve tmě, ve skleněných nádobách.

Další použité chemikálie: kyselina boritá, kyselina fosforečná 85%, kyselina octová 99 %, kyselina chlorovodíková 35 %, hydroxid sodný a chlorid draselný (všechno v čistoty p.a., Lachema Brno), methanol v chromatografické čistotě (Merck, Praha).

Brittonův-Robinsonův tlumivý roztok⁴⁹ o příslušném pH byl připraven smísením $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ NaOH s roztokem obsahujícím kyselinu boritou, fosforečnou a octovou, každou o koncentraci $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$.

Pro přípravu vodných roztoků byla používána deionizovaná voda (Millipore Q - plus systém, Millipore, USA).

2.2 Aparatura

Při všech stanoveních byla použita sestava Eco-Tribo Polarograf s softwarem PolarPro verze 5.1, firma Polar-Sensors, Praha. Software pracoval v operačním systému Windows XP.

Jednotlivá měření byla prováděna v tříelektrodovém zapojení, kdy byla jako referenční elektroda použita elektroda argentochloridová (3 mol.l^{-1} KCl) a jako pomocná elektroda byl použit platinový plíšek.

Není-li uvedeno jinak byla použita rychlost nárůstu potenciálu 20 mV.s^{-1} a pro DPV modulační amplituda -50 mV .

Přesná hodnota pH byla měřena digitálním pH-metrem Jenway 4330 (Jenway, Essex, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou (Typ 924 005). Přístroj byl kalibrován pomocí standardních vodných pufrů (Sevac, Praha, ČR) za laboratorní teploty.

Spektrometrická měření byla prováděna na přístroji Agilent Technologies 8453, který je určený ke spektrometrickým měřením roztoků v UV/VIS oblasti spektra v rozsahu 190-1100 nm. Spektrofotometr je plně řízen osobním počítačem pomocí ovládacího programu UV-VisibleChemStation, verze 9.01. K měření byla použita křemenná kyveta o měrné tloušťce 1 cm.

2.3 Pracovní elektrody

2.3.1 Meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda

Pro studium cehování 2-methoxy-5-nitrofenolu byla používána meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda (m-AgSAE) č. 2-05-26 o průměru disku 0,5 mm vyrobená firmou Polaro-Sensors, Praha. Tento typ elektrody byl vyvinut v laboratoři ÚFCH JH AV.⁴³

V rámci měření byly prováděny s elektrodou tři operace, kterými byl obnovován povrch elektrody:

Amalgamace: Ponořením elektrody do kapalně rtuťové rtuti asi na 15 s se obnovil celý meniskus. Amalgamace byla prováděna vždy asi po jednom týdnu, anebo po dlouhodobém přerušení práce.

Elektrochemická aktivace: Aktivace byla prováděna v roztoku 0,2 mol.l⁻¹ KCl, který nebyl probubláván dusíkem, vložením napětí -2,2 V po dobu 300 s. Při aktivaci docházelo k elektrochemickému čištění povrchu elektrody. Aktivace byla prováděna po amalgamací, při pasivovaném povrchu elektrody a při přerušení práce na dobu delší než jednu hodinu.

Regenerace: Tato operace byla prováděna v měřeném roztoku při současném bublání dusíkem a mícháním roztoku. Na elektrodu bylo vkládáno napětí podle následujícího potenciálového programu. Skokové střídání kladnějšího konstantního potenciálu E_{in} a zápornějšího konstantního potenciálu E_{fin} v intervalech 0,1 s po dobu 30 s. Potenciálový program končil vždy při zápornějším potenciálu.

2.3.2 Uhlíková filmová elektroda

Pro studium cehování 2-methoxy-5-nitrofenolu byla použita uhlíková filmová elektroda tvořená uhlíkovým filmem, který pokrýval stříbrnou amalgámovou elektrodu

(CF-AgSAE) č. 2-05-16 o průměru disku 0,425 mm vyrobenou firmou Polaro-Sensors, Praha. Tento typ elektrody byl vyvinut v laboratoři ÚFCH JH AV.⁴³

Film byl vytvořen smočením povrchu elektrody v uhlíkovém inkoustu. Po vytěkání rozpouštědla (1-2 min) se na povrchu elektrody vytvořil film a elektroda byla připravena k použití.

Uhlíkový inkoust použitý pro vytvoření filmu byl připraven smísením a rozpuštěním 0,09 g uhlíku CR2 a 0,01 g polystyrenu v 0,5 ml dichlorethanu. Inkoust byl zhomogenizován intenzivním mícháním po dobu 5 minut s použitím Vortex-Genie 2 (Scientific Industries, Inc., USA). Po užití složení filmu bylo optimalizováno v předchozí práci.⁴³

Na elektrodu byla před každým měřením aplikována elektrochemická regenerace pro dosažení lepší opakovatelnosti měření. Není-li uvedeno jinak byla elektrochemická regenerace uskutečněna vkládáním potenciálových pulsů $E_{in} = 100 \text{ mV}$ a $E_{fin} = 600 \text{ mV}$, v intervalech 0,1 s po dobu 30 s.

V případě pasivace filmu byl odstraněn mechanickým otřením a nahrazen novým.

2.4 Pracovní postupy

Při voltametrických měřeních bylo do odměrné baňky na 10 ml odpipetováno příslušné množství roztoku studované látky a pak byl roztok doplněn BR pufrem o příslušném pH po značku.

Takto připravený roztok byl po promíchání převeden do voltametrické nádoby a zbaven kyslíku pětiminutovým probubláváním dusíkem. Poté byl proveden záznam voltametrické křivky. Před každým dalším záznamem byl roztok 30 s probubláván. Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty.

Vzorek říční vody pro modelové stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu byl odebrán 10. února 2010 ve Vltavě na Rašínově nábřeží (Praha, Železniční most) v hloubce 20 cm a vzdálenosti 0,3 m od břehu. Říční voda byla přefiltrována přes fritu S 4.

Analyzované modelové vzorky 2-methoxy-5-nitrofenolu v destilované a říční vody byly připraveny přidáním potřebného množství zásobního roztoku

2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$) v destilované vodě ke zpracovanému objemu vzorku.

Extrakce tuhou fází byla prováděna na kolonkách LiChrolut EN (500 mg, CAT.NO. 1.19691.0001, Merck, Německo), tyto kolonky jsou naplněny 500 mg sorbentu na bázi kopolymeru etylvinylbenzenu a divinylbenzenu. Tyto kolonky jsou dle údajů výrobce vhodné pro separaci slabě polárních látek z vodného prostředí, mezi které patří i studovaná látka 2-methoxy-5-nitrofenol.

Extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu z vodného roztoku byla prováděna následujícím postupem: Kolonka byla napojena na speciální vakuovou nádobu, která byla spojena s vývěvou. Podtlak byl kontrolován manometrem a byl nastaven tak, aby byla udržována konstantní rychlost průtoku 2 ml.min^{-1} , hodnota podtlaku byla -20 kPa . Kolonka byla aktivována promytím $2 \times 3 \text{ ml}$ methanolu, který byl následně vymyt 3 ml destilované vody. Poté byl kolonkou proléván modelový vzorek vody. Po jeho prosoátí byl kolonkou prosoáván vzduch po dobu 10 min. Zachycený 2-methoxy-5-nitrofenol byl eluován $2 \times 3 \text{ ml}$ methanolu do odměrné baňky a doplněn BR puřem o pH 6,0 na objem 10 ml. Následně byl roztok převeden do voltametrické nádoby a po odstranění kyslíku byly zaznamenány voltamogramy.

Shodným postupem byl připraven slepý vzorek s použitím vzorku destilované vody neobsahující 2-methoxy-5-nitrofenol. K němu bylo po zaznamenání voltamogramu přidáno příslušné množství 2-methoxy-5-nitrofenolu, které odpovídalo očekávané koncentraci v měřeném roztoku po extrakci tuhou fází a znovu byl zaznamenán voltamogram.

Procentuální výtěžek extrakce byl určen z poměru I_p/I_p^0 , kde I_p značí výšku píku po provedené extrakci v daného vzorku 2-methoxy-5-nitrofenolu o příslušné koncentraci, I_p^0 je výška píku 2-methoxy-5-nitrofenolu v roztoku připraveném extrakcí slepého vzorku k němuž byl přidán odpovídající objem zásobního roztoku 2-methoxy-5-nitrofenolu.

Všechny křivky byly měřeny třikrát a výsledky poté statisticky vyhodnoceny.

Mez stanovitelnosti byla počítána s pomocí programu ADSTAT, který ji počítá jako nejmenší hodnotu signálu, pro kterou je relativní směrodatná odchylka predikce z kalibračního grafu dostatečně malá a rovna číslu 0,1.⁵⁰

Vyhodnocení DC voltametrické vlny (která někdy přicházela do tvaru píku) bylo prováděno prodloužením lineární části záznamu před nástupem vlny, vynesení kolmice k potenciálové ose v místě největšího proudu vlny a změřením velikosti

proudu mezi vrcholem vlny a průsečíkem této kolmice s prodloužením záznamu před nástupem vlny. Takto získaná hodnota je v dalším textu označována jako výška vlny I_v a potenciál odpovídající maximu DC voltametrické vlny je v dalším textu označován jako potenciál vlny E_v . Při nižších koncentracích, kdy měla křivka tvar klasické vlny odečítána I_v také při E_v .

Výška DP píku byla vyhodnocována od spojnice minimálního proudu s tranáči, změřením velikosti proudu mezi touto spojnicí a maximem píku.

Proud základního elektrolytu byl odečítán od spojnice, která byla prokládána v jeho sedle tak, aby odpovídala místům na křivce při potenciálech minim susedících s píkem studované látky.

2.5 Stálost zásobního roztoku studované látky

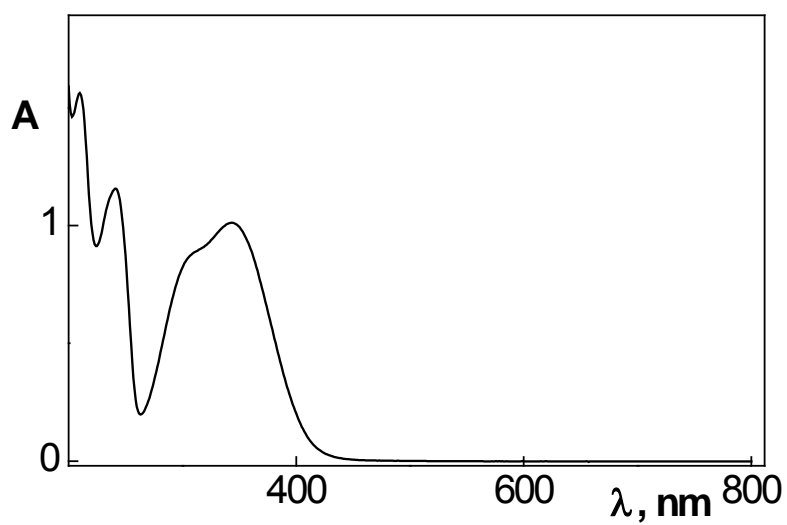
Stálost zásobního roztoku studované látky o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ ve vodě byla sledována spektrometricky v křemenné kyvetě o měrné tloušťce 1 cm. Referenční kyveta byla naplněna vodou. Výsledky měření stálosti zásobního roztoku jsou uvedeny v Tab. 2.

Z výsledků vyplývá, že během měsíce nedošlo k výrazné změně koncentrace studované látky. Je tedy vidět, že zásobní roztok studované látky je při uchovávání ve tmě a za stálé laboratorní teploty dostatečně stálý. Na Obr. 5 je absorpční spektrum studované látky.

Tab. 2

Spektrometrické sledování stálosti zásobního roztoku 2-methoxy-5-nitrofenolu o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ ve vodě při vlnové délce 210; 242; 345 nm. Číselné hodnoty udávají relativní hodnotu koncentrace v % proti hodnotě koncentrace čerstvě připraveného roztoku.

Dny	0	18	26	32
%	100	99,7	99,4	99,1
A_{210}	1,586	1,581	1,577	1,572
%	100	99,4	98,9	98,4
A_{242}	1,196	1,189	1,184	1,177
%	100	99,4	99,0	98,4
A_{345}	1,048	1,042	1,037	1,032



Obr. 5

Absorpční spektrum roztoku 2-methoxy-5-nitrofenolu o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ ve vodě. Měřeno proti vodě v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 1 cm.

3 Adsorpční rozpouštěcí voltametrie 2-methoxy-5-nitrofenolu na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě

Chování 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$) při AdSV bylo studováno v BR pufru o pH 2,0 a pH 6,0 na m-AgSAE.

Byl zjišťován optimální potenciál akumulace E_{aac} , který byl měněn od 100 mV od –300 mV pro pH 2,0 a od –200 mV do –600 mV pro pH 6,0 při konstantní době akumulace 60 s v míchaném roztoku. Potenciál akumulace byl vždy volen tak, aby byl před nástupem odpovídajícího píku. Na Obr. 6 je ukázán vliv potenciálu vkládaného na elektrodu na výšku píku v rozmezí od 100 mV do –300 mV pro pH 2,0 a od –200 mV do –600 mV pro pH 6,0. Jako optimální potenciál akumulace byl pro pH 2,0 zvolen 100 mV a jako optimální potenciál akumulace pro pH 6,0 byl zvolen –400 mV, kdy byl proud píku nejvyšší.

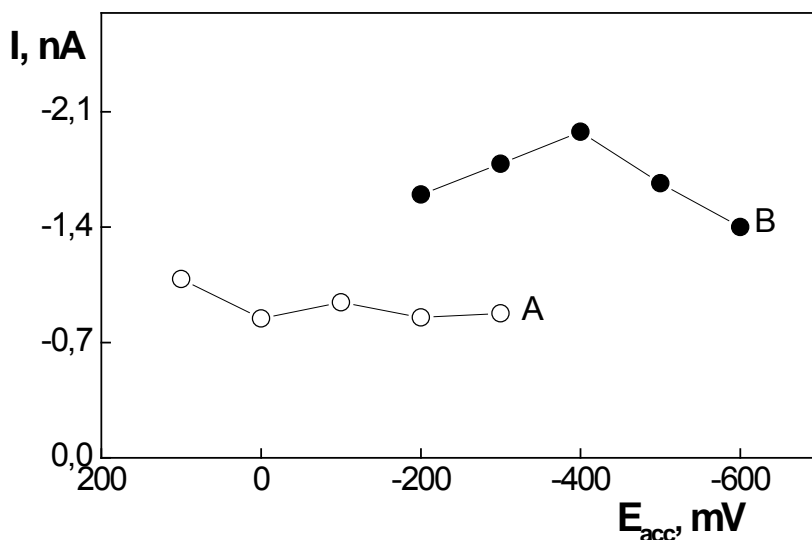
Byla zjišťována optimální doba akumulace při potenciálech akumulace 100 mV pro pH 2,0. Dále bylo porovnáno měření bez aktivace před každým měřením v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl a s aktivací před každým měřením v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl. Na Obr. 7 je ukázán vliv doby akumulace při potenciálu akumulace 100 mV pro pH 2,0 bez aktivace a s aktivací v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl před každým měřením. Z Obr. 7 je vidět, že doba akumulace má vliv na výšku píku a to jak při aktivaci před měřením tak i bez ní.

Dále byla zjišťována optimální doba akumulace při potenciálech akumulace –600 mV pro pH 6,0. Bylo porovnáno i měření bez aktivace před každým měřením v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl a s aktivací před každým měřením v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl. Na Obr. 8 je ukázán vliv doby akumulace při potenciálu akumulace –600 mV pro pH 6,0 bez aktivace a s aktivací v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl před každým měřením. Na Obr. 8 je vidět, že se 2-methoxy-5-nitrofenol na elektrodě akumuluje i při pH 6,0.

Jako optimální doba akumulace byl zvolen čas 600 s při pH 2,0 a měření bez aktivace v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl před každým měřením, kdy byl proud píku nejvyšší. Koncentrační závislost 2-methoxy-5-nitrofenolu byla proměřena metodou AdSV na m-AgSAE v prostředí pufru o pH 2,0 v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$; $E_{\text{aac}} = 100 \text{ mV}$; $t_{\text{acc}} = 600 \text{ s}$ (Obr. 9). Koncentrační závislost byla proměřena bez aktivace před každým měřením v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl.

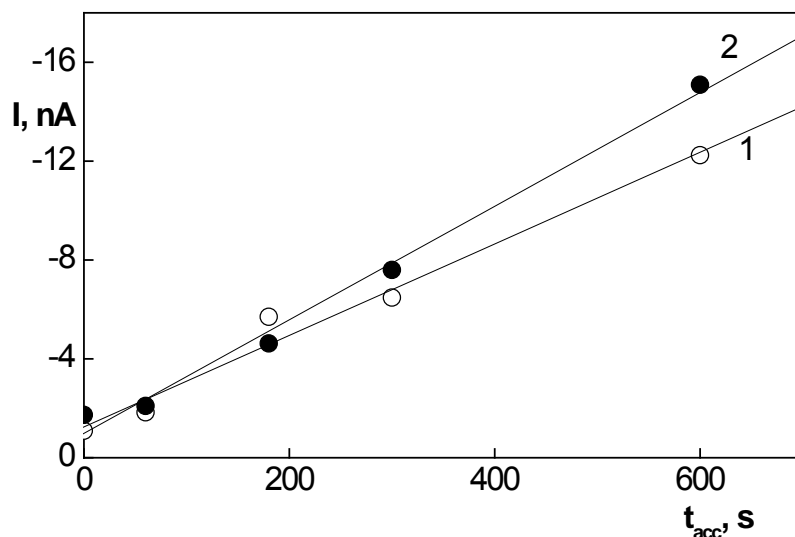
Závislost výšky píku na koncentraci je lineární. Parametry kalibrační přímky a mez stanovitelnosti jsou uvedeny v Tab. 3. Na Obr. 10 je zobrazena kalibrační závislost výšky píku na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu v dosaženém koncentračním rozmezí.

Pro pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $3,6 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$.



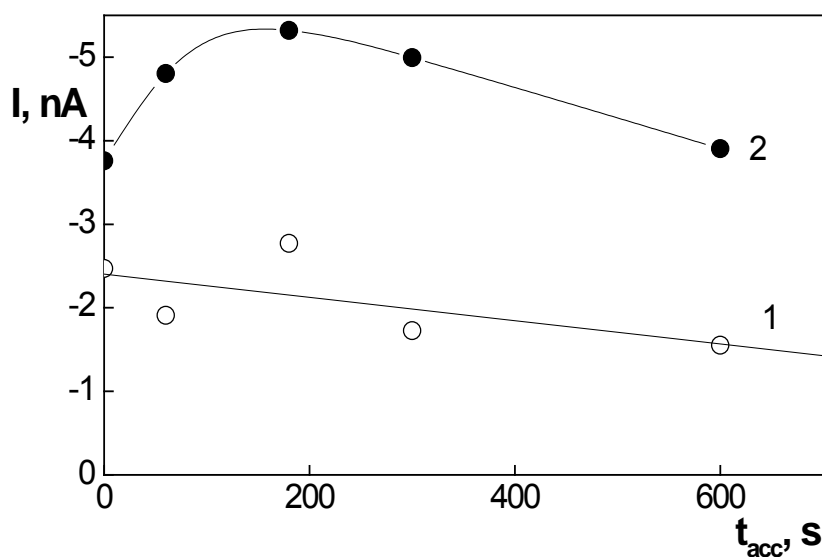
Obr. 6

Vliv potenciálu v kládaného na elektrodu na výšku píku 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$) při jeho akumulaci na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0; $E_{acc} = 100$ do -300 mV pro pH 2,0 (A) a od -200 mV do -600 mV pro pH 6,0 (B) při konstantní době akumulace 60 s v míchaném roztoku.



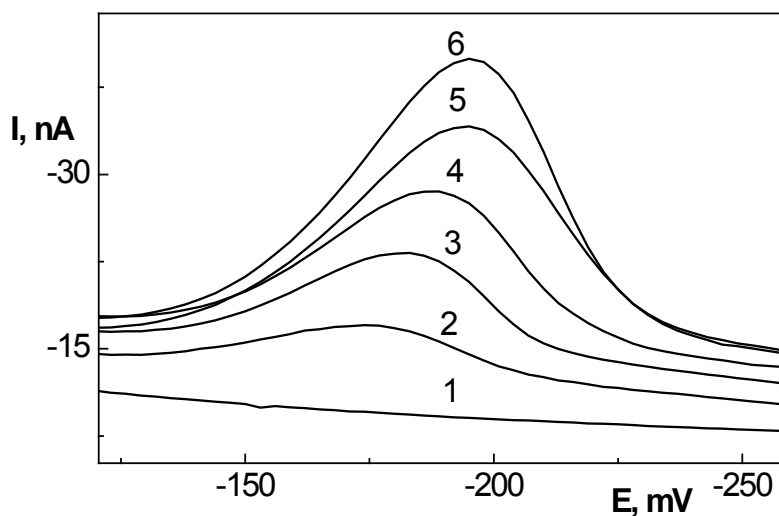
Obr. 7

Vliv doby akumulace na výšku píku 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$) v míchaném roztoku v prostředí BR pufru o pH 2,0; $E_{acc} = 100 \text{ mV}$. Aktivace v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl před každým měřením (1), bez aktivace v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl před každým měřením (2).



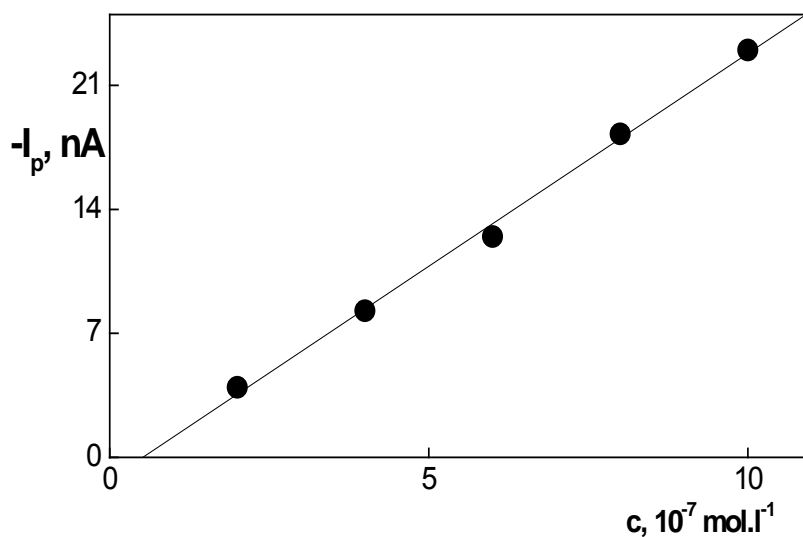
Obr. 8

Vliv doby akumulace na výšku píku 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$) v míchaném roztoku v prostředí BR pufru o pH 6,0; $E_{acc} = -400 \text{ mV}$. Aktivace v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl před každým měřením (1), bez aktivace v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl před každým měřením (2).



Obr. 9

Voltamogramy 2 -methoxy-5-nitrofenolu měřené bez aktivace v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl metodou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0; $E_{\text{acc}} = 100 \text{ mV}$; $t_{\text{acc}} = 600 \text{ s}$. Koncentrace látky byla 0 (1); $2 \cdot 10^{-7}$ (2); $4 \cdot 10^{-7}$ (3); $6 \cdot 10^{-7}$ (4); $8 \cdot 10^{-7}$ (5); $1 \cdot 10^{-6}$ (6) mol.l^{-1} .



Obr. 10

Závislost proudu píku I_p na koncentraci 2 -methoxy-5-nitrofenolu v rozmezí ($2 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-6}$) mol.l^{-1} . Měřeno metodou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0; $E_{\text{acc}} = 100 \text{ mV}$; $t_{\text{acc}} = 600 \text{ s}$. Měřeno bez aktivace v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl před každým měřením.

Tab. 3

Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu metodou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0; $E_{acc} = 100$ mV; $t_{acc} = 600$ s. Měřeno bez aktivace v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ KCl před každým měřením.

<i>Koncentrace</i> [mol.l ⁻¹]	<i>Směrnice</i> [nA.mol ⁻¹ .l]	<i>Úsek</i> [nA]	<i>Koef.</i> korelace	<i>LOD</i> [mol.l ⁻¹]
(2-10).10 ⁻⁷	-2,4.10 ⁷	1,2	0,9983	3,6.10 ⁻⁷

4 Předběžná separace 2-methoxy-5-nitrofenolu extrakcí tuhou fází z modelových vzorků vody

4.1 Extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu tuhou fází z destilované vody

Extrakce tuhou fází se používá pro předběžnou separaci látek ze složitější matrice, nebo může sloužit také jako prekoncentrační krok před vlastním stanovením. V případě použití destilované vody jako jednoduché modelové matrice má tato technika čistě prekoncentrační funkci.

Byla porovnána účinnost extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu bez úpravy pH modelové matrice destilované vody a s úpravou pH modelové matrice destilované vody. Úprava pH modelové matrice destilované vody byla prováděna přidáním konc. kyseliny HCl tak, aby pH modelové matrice vody bylo 2,5. Byl zvolen postup s upraveným pH modelové matrice destilované vody, protože vyznačoval vyšší účinnost a lépe opakovatelné výsledky, což zřejmě souvisí s potlačením disociace fenolické skupiny. Parametry účinnosti extrakce jsou uvedeny v Tab. 4.

Pro voltametrické stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu po extrakci tuhou fází metodou DPV byla použita m-AgSAE elektroda.¹⁰

Extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu byla prováděna na kolonkách LiChrolut EN podle postupu, který je popsán v kapitole (2.4).

Byla provedena extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu z objemu 100 ml a 500 ml modelové matrice destilované vody okyselené na pH 2,5.

Účinnost extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu ze 100 ml modelové matrice destilované vody okyselené na pH 2,5 s koncentrací látky $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ ve vodě byla 91 %. Účinnost extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu z 500 ml modelové matrice destilované vody okyselené na pH 2,5 s koncentrací látky $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ ve vodě byla 88 %. Extrakce z vyššího objemu modelové matrice destilované vody vyznačovala téměř shodnou účinnost jako extrakce z nižšího objemu modelové matrice destilované vody. Z toho vyplývá, že extrakční účinnost až do 500 ml téměř nezávisí na objemu modelové matrice destilované vody. Parametry účinnosti extrakce jsou uvedeny v Tab. 5, odpovídající voltamogramy jsou uvedeny na Obr. 11 a 12.

Dále byla proměřena koncentrační závislost pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml

methanolu doplněných na 10 ml BR puforem o pH 6,0 po extrakci ze 100 ml modelové matrice destilované vody okyselené na pH 2, 5 v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$.

Závislost výšky píku na koncentraci je lineární. Parametry kalibrační přímky a mez stanovitelnosti jsou uvedeny v Tab. 6, odpovídající DP voltamogramy jsou uvedeny na Obr. 13 a odpovídající kalibrační přímka na Obr. 14.

Po extrakci tuhou fází bylo dosaženo meze stanovitelnosti $3,3 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$.

Tab. 4

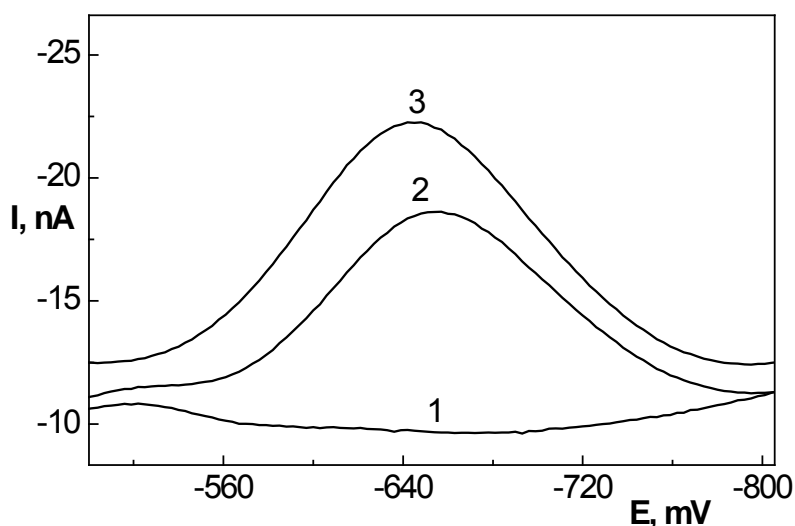
Parametry účinnosti extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) bez úpravy pH modelové matrice destilované vody a s upraveným pH modelové matrice destilované vody. Extrahovaný objem modelové matrice destilované vody byl 100 ml. Měřeno v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR puforem o pH 6,0.

<i>pH vody</i>	<i>I_p [nA]</i>	<i>I_p⁰ [nA]</i>	<i>výtěžek [%]</i>
2,5	-8,56	-9,63	89
5,7	-10,40	-12,58	83

Tab. 5

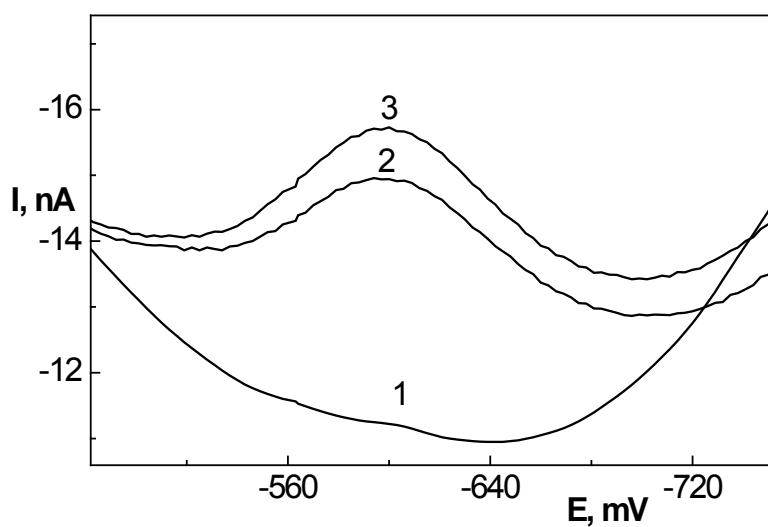
Parametry účinnosti extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu z destilované vody okyselené na pH 2,5. Měřeno v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrům o pH 6,0.

<i>c</i> (2-methoxy-5-nitrofenolu) ve vodě [mol.l ⁻¹]	extrahovaný objem vzorku [ml]	<i>I_p</i> [nA]	<i>I_p⁰</i> [nA]	výtěžek [%]
1.10 ⁻⁸	500	-1,91	-2,17	88
1.10 ⁻⁶	100	-9,35	-10,32	91



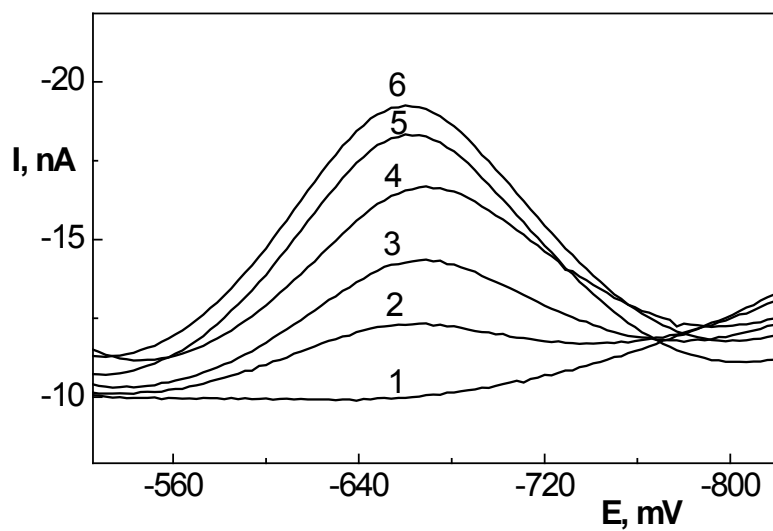
Obr. 11

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrům o pH 6,0 po extrakci tuhou fází z 100 ml odelového vzorku destilované vody okyselené na pH 2,5 s koncentrací látky 1.10⁻⁶ mol.l⁻¹. Slepý vzorek (1), extrakt 2-methoxy-5-nitrofenolu z vodného roztoku (2), přímý přírůstek 2-methoxy-5-nitrofenolu ke slepému vzorku (3).



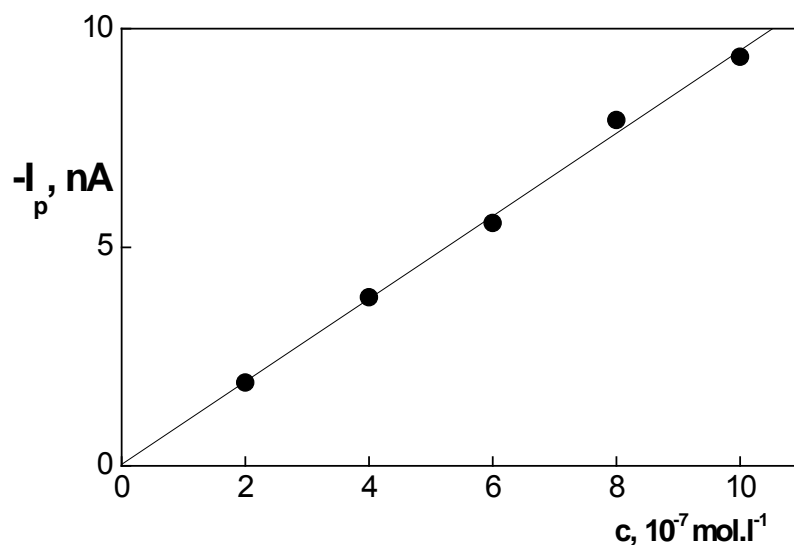
Obr. 12

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR puřrem o pH 6,0 po extrakci tuhou fází z 5 00 ml m odelového v zorku des tilované v ody okyselené na pH 2, 5 s koncentrací látky $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$. Slepý v zorek (1), e xtrakt 2-methoxy-5-nitrofenolu z vodného roztoku (2), přímý přídavek 2-methoxy-5-nitrofenolu ke s lepému v zorku (3).



Obr. 13

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrům na pH 6,0 po extrakci ze 100 ml 0,1 M odelového v zorku des tilované v ody o pH 2, 5. Koncentrace látky v destilované vodě byla: 0 (1), $2 \cdot 10^{-7}$ (2), $4 \cdot 10^{-7}$ (3), $6 \cdot 10^{-7}$ (4), $8 \cdot 10^{-7}$ (5), $10 \cdot 10^{-7}$ (6) mol.l⁻¹.



Obr. 14

Závislost proudu píku I_p na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu v destilované vodě v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrům na pH 6,0 po extrakci 2-methoxy-5-nitrofenolu ze 100 ml destilované vody okyselené na pH 2,5.

Tab. 6

Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu po extrakci ze 100 ml destilované vody okyselené na pH 2,5 měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrům o pH 6,0.

Koncentrace [mol.l ⁻¹]	Směrnice [nA.mol ⁻¹ .l]	Úsek [nA]	Koef. korelace	LOD [mol.l ⁻¹]
$(2 - 10) \cdot 10^{-7}$	$-9,47 \cdot 10^6$	0	0,9981	$3,3 \cdot 10^{-7}$

4.2 Extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu tuhou fází z říční vody

Extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu z říční vody byla prováděna stejně jako předchozí extrakce na kolonkách LiChrolut EN. Říční voda pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu byla přefiltrována přes fritu S 4 a dále byl pracovní postup stejný jak je popsán v kapitole (2.4).

Účinnost extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu ze 100 ml modelového vzorku říční vody okyselené na pH 2,5 s koncentrací látky $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ ve vodě byla 80 %. Účinnost extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu z 500 ml modelového vzorku říční vody okyselené na pH 2,5 s koncentrací látky $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ ve vodě byla 76 %. Extrakce z vyššího objemu modelového vzorku říční vody vykazovala téměř shodnou účinnost jako extrakce z nižšího objemu modelového vzorku říční vody. Z toho vyplývá, že extrakční účinnost až do 500 ml téměř nezávisí na objemu modelové matrice říční vody. Parametry účinnosti extrakce jsou uvedeny v Tab. 7, odpovídající voltamogramy jsou uvedeny na Obr. 15 a 16.

Dále byla proměřena koncentrační závislost pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrům o pH 6,0 po extrakci z 500 ml modelové matrice říční vody okyselené na pH 2,5 v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$.

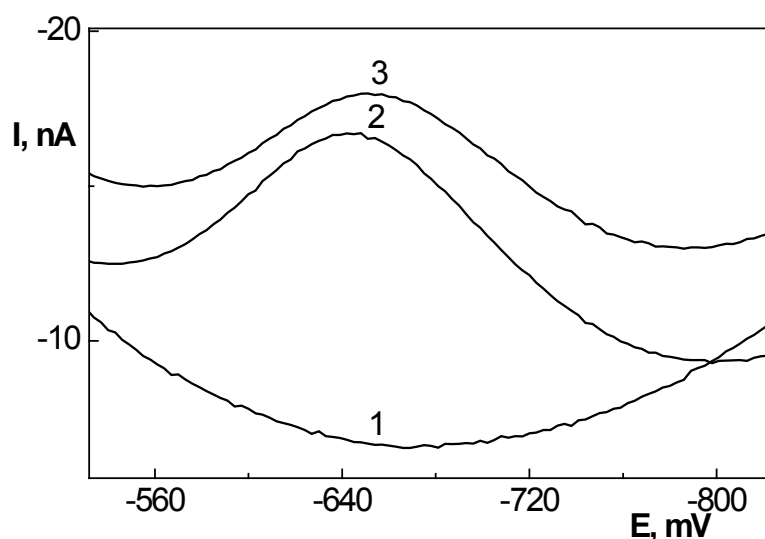
Závislost výšky píku na koncentraci je lineární. Parametry kalibrační přímky a mez stanovitelnosti jsou uvedeny v Tab. 8, odpovídající DPV voltamogramy jsou uvedeny na Obr. 17 a odpovídající kalibrační přímka na Obr. 18.

Po extrakci tuhou fází bylo dosaženo meze stanovitelnosti $6,6 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$.

Tab. 7

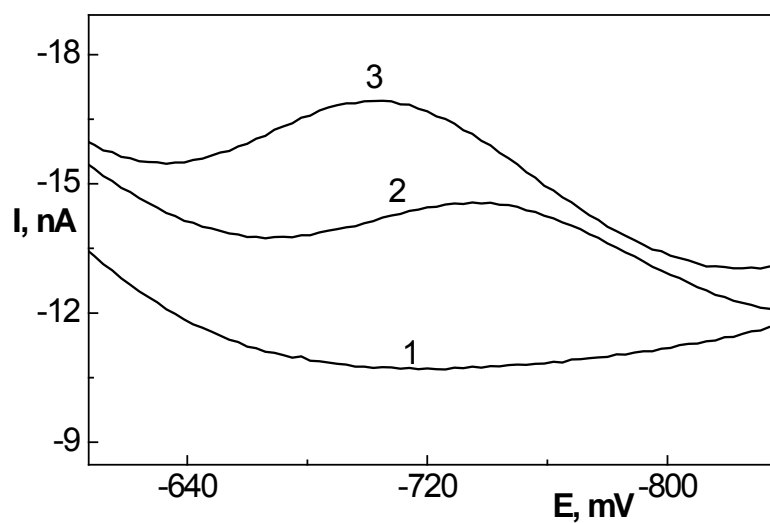
Parametry účinnosti extrakce 2-methoxy-5-nitrofenolu z říční vody okyselené na pH 2, 5. Měřeno v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrům o pH 6,0.

<i>c</i> (2-methoxy-5-nitrofenolu) ve vodě [mol.l ⁻¹]	extrahovaný objem vzorku [ml]	<i>I_p</i> [nA]	<i>I_p</i> ⁰ [nA]	výtěžek [%]
1.10 ⁻⁸	500	-2,05	-2,71	76
1.10 ⁻⁶	100	-4,43	-5,53	80



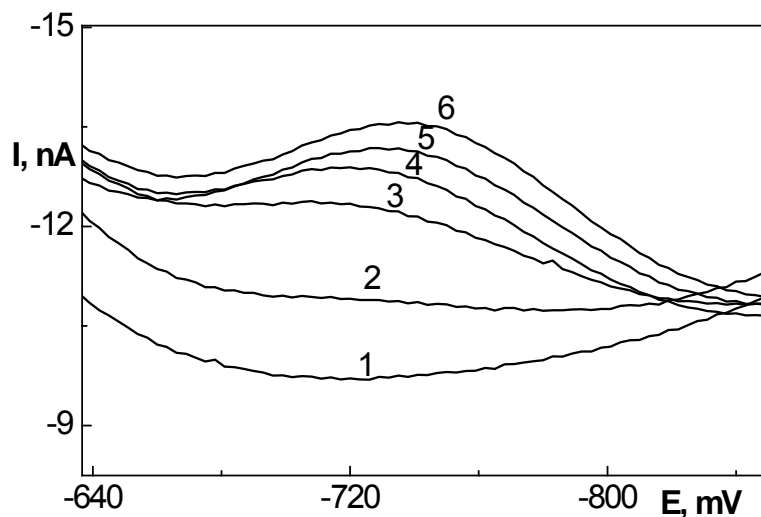
Obr. 15

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrům o pH 6,0 po extrakci tuhou fází z 100 ml odelového vzorku říční vody okyselené na pH 2, 5 s koncentrací látky 1. 10⁻⁶ mol.l⁻¹. Slepý vzorek (1), extrakt 2-methoxy-5-nitrofenolu z vodného roztoku (2), přímý přírůstek 2-methoxy-5-nitrofenolu ke slepému vzorku (3).



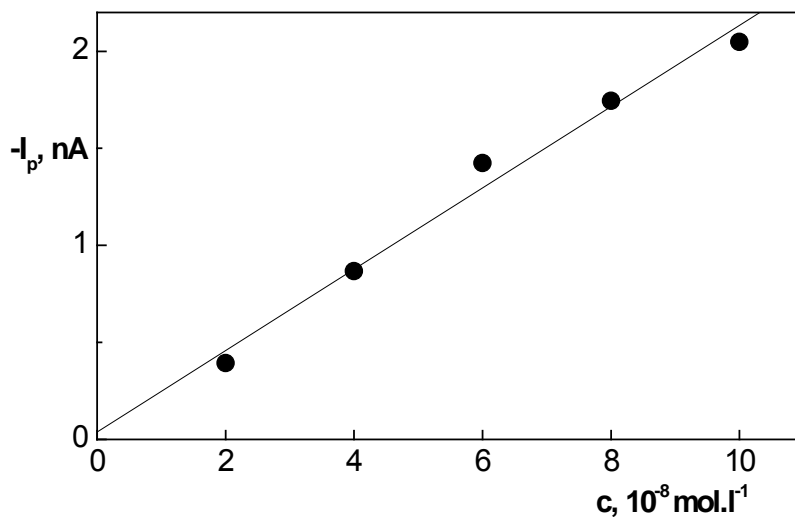
Obr. 16

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR puforem o pH 6,0 po extrakci tuhou fází z 500 ml modelového vzorku říční vody okyselené na pH 2,5 s koncentrací látky $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$. Slepý vzorek (1), extrakt 2-methoxy-5-nitrofenolu z vodného roztoku (2), přímý přídavek 2-methoxy-5-nitrofenolu ke slepému vzorku (3).



Obr. 17

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrém o pH 6,0 po extrakci z 500 ml modelového vzorku říční vody okyselené na pH 2,5. Koncentrace látky v říční vodě byla: 0 (1), $2 \cdot 10^{-8}$ (2), $4 \cdot 10^{-8}$ (3), $6 \cdot 10^{-8}$ (4), $8 \cdot 10^{-8}$ (5), $10 \cdot 10^{-8}$ (6) mol.l^{-1} .



Obr. 18

Závislost proudu I_p na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu v říční vodě v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrém o pH 6,0 po extrakci 2-methoxy-5-nitrofenolu z 500 ml říční vody okyselené na pH 2,5.

Tab. 8

Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu po e xtrakci z 500 ml říční vody okyselené na pH 2,5 měřené technikou D PV na m-AgSAE v prostředí 6 ml methanolu doplněných na 10 ml BR pufrém o pH 6,0.

<i>Koncentrace</i> <i>[mol.l⁻¹]</i>	<i>Směrnice</i> <i>[nA.mol⁻¹.l]</i>	<i>Úsek</i> <i>[nA]</i>	<i>Koef.</i> <i>korelace</i>	<i>LOD</i> <i>[mol.l⁻¹]</i>
$(2 \cdot 10^{-8})$	$-2,09 \cdot 10^7$	0,1	0,9918	$6,6 \cdot 10^{-8}$

5 Cyklická voltametrie 2-methoxy-5-nitrofenolu na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě

Byly proměřeny cyklické voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru 2,0 až 12,0 na m-AgSAE při rychlostech polarizace $10 - 500 \text{ mV.s}^{-1}$. Při měření byly zaznamenávány tři skeny. Před každým měřením byla prováděna regenerace elektrody $E_{\text{in}} = -1000 \text{ mV}$; $E_{\text{fin}} = -100 \text{ mV}$. Na Obr. 19 jsou vybrané voltamogramy naměřené v prostředí o pH 2,0; 6,0; a 10,0 při rychlostech polarizace 20 a 200 mV.s^{-1} . Z tohoto obrázku je patrné, že redukce 2-methoxy-5-nitrofenolu probíhá ireverzibilně v celé sledované oblasti pH.

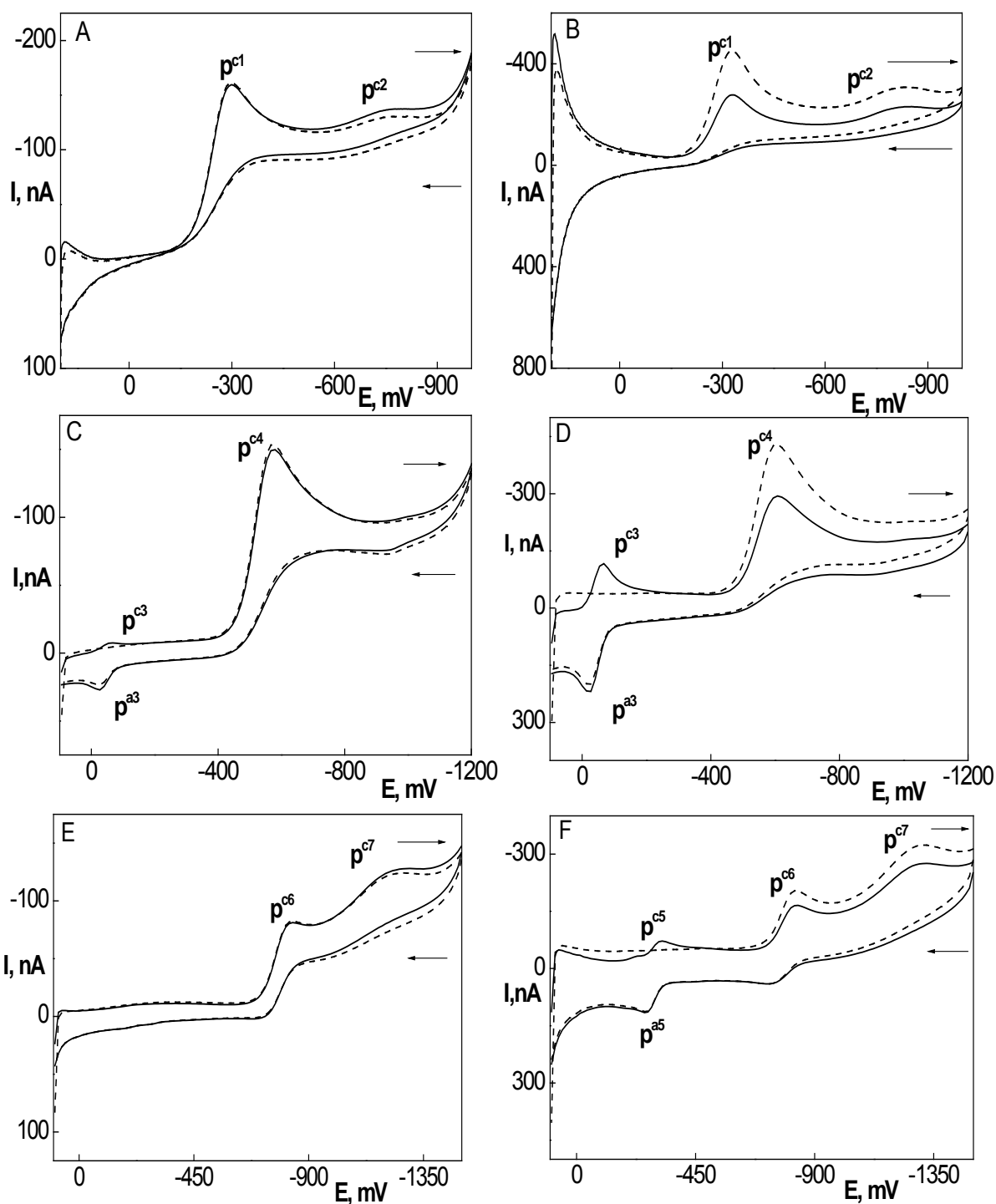
V prostředí BR pufru o pH 2,0 jsou dobře rozpoznatelné dva katodické píky (p^{c1} , p^{c2}) při všech rychlostech. Katodický pík p^{c1} pravděpodobně odpovídá čtyřelektronové redukci nitroskupiny (ArNO_2) na (ArHOH_2N^+) na aminoskupinu podle rovnice 1. a katodický pík p^{c2} pravděpodobně odpovídá dvouelektronové redukci (ArHOH_2N^+) na aminoskupinu (ArNH_2) podle rovnice 2.

V prostředí BR pufru o pH 6,0 je při všech rychlostech dobře rozpoznatelný jeden katodický pík (p^{c4}) při prvním skenu, při dalším skenu vzniká druhý katodický pík (p^{c3}), který není při nízkých rychlostech příliš znatelný a pomalu se zvětšuje s rostoucí rychlostí. Dále se zde objevuje jeden anodický pík (p^{a3}), který vzniká při zpátečním skenu 2-methoxy-5-nitrofenolu při všech rychlostech. Katodický pík p^{c4} pravděpodobně odpovídá čtyřelektronové redukci nitroskupiny (ArNO_2) na hydroxylaminoskupinu (ArNHOH) podle rovnice 3. Reverzibilní redoxní systém hydroxylamino-/nitrososkupina, dobře známý a popsáný z elektrochemického chování podobných sloučenin v neutrálních a zásaditých protických prostředích na rtuťových elektrodách^{51 - 52}, lze pozorovat i v případě redoxního chování 2-methoxy-5-nitrofenolu na m-AgSAE. Katodický pík p^{c3} ve druhém skenu odpovídá redukci hydroxylaminoskupiny (ArNHOH) na nitrososkupinu (ArNO) za účasti dvou elektronů podle rovnice 4. Anodický pík p^{a3} pozorovatelný v prvním zpátečním skenu poté odpovídá oxidaci 2-methoxy-5-hydroxyaminofenolu. Tato dvouelektronová reversibilní oxidace dává vzniknout nitrososkupině (zpětný děj dle rovnice 4).

V prostředí BR pufru o pH 10,0 jsou při nižší rychlosti dobře rozpoznatelné dva katodické píky (p^{c6} , p^{c7}). Při vyšší rychlosti lze rozpoznat dva katodické píky (p^{c6} , p^{c7}) při prvním skenu, při dalším skenu vzniká třetí katodický pík (p^{c5}). Dále se zde objevuje jeden anodický pík (p^{a5}), který vzniká při zpátečním skenu 2-methoxy-5-nitrofenolu při vyšších rychlostech. V prvním kroku pravděpodobně dochází k jedoelektronové redukci za vzniku radikálu $ArNO_2^{\cdot-}$ (rovnice 5, pík p^{c6}), ve druhém k roku dochází k tříelektronové redukci $ArNO_2^{\cdot-}$ na hydroxylaminoskupinu (rovnice 6, pík p^{c7}). Katodický pík p^{c5} je následován anodickým píkem p^{a5} , který pravděpodobně odpovídá reverzibilnímu páru hydroxylamino-/nitrososkupina (výměna dvou elektronů podle rovnice 7).

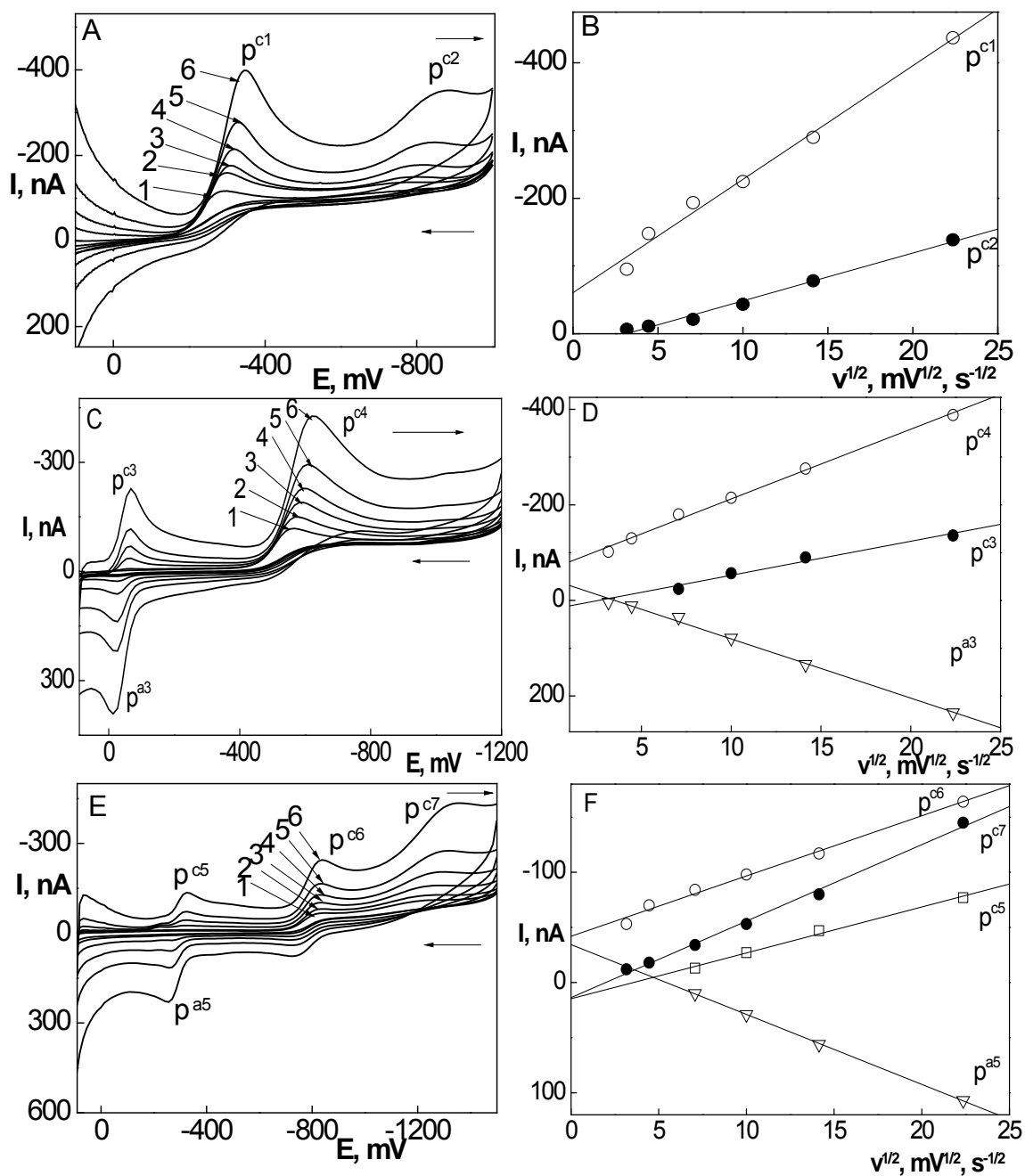
Cyklické voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v závislosti na rychlosti polarizace jsou spolu se závislostí proudu píku na odmocnině rychlosti polarizace ($v^{1/2}$) znázorněny na Obr. 20 v BR pufru o pH 2,0; 6,0; 10,0.

Proudy píků jsou lineárně závislé na odmocnině rychlosti, elektrochemická reakce studované látky je tedy řízena difúzí. Parametry lineárních závislostí proudů píků na odmocnině z rychlosti polarizace jsou shrnuty v Tab. 9.



Obr. 19

Cyklické voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (A: $v = 20 \text{ mV.s}^{-1}$, B: $v = 200 \text{ mV.s}^{-1}$), pH 6,0 (C: $v = 20 \text{ mV.s}^{-1}$, D: $v = 200 \text{ mV.s}^{-1}$) a pH 10,0 (E: $v = 20 \text{ mV.s}^{-1}$, F: $v = 200 \text{ mV.s}^{-1}$); (---) 1. sken, (—) 2. sken.



Obr. 20

Cyklické voltamogramy druhého skenu 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (A), pH 6,0 (C) pH 10,0 (E) při rychlosti polarizace 1 – 10 mV.s^{-1} , 2 – 20 mV.s^{-1} , 3 – 50 mV.s^{-1} , 4 – 100 mV.s^{-1} , 5 – 200 mV.s^{-1} , 6 – 500 mV.s^{-1} .

Závislost proudu katodických píků a anodického píku druhého skenu 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na odmocnině rychlosti polarizace ($v^{1/2}$), měřené cyklickou voltametrií na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (B), pH 6,0 (D), pH 10,0 (F).

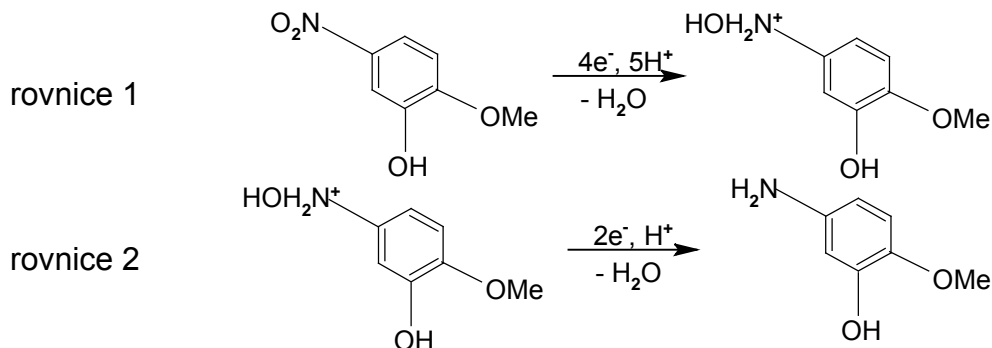
Tab. 9

Parametry lineárních závislostí proudů katodických píků a anodických píků 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na odmocnině rychlosti polarizace.

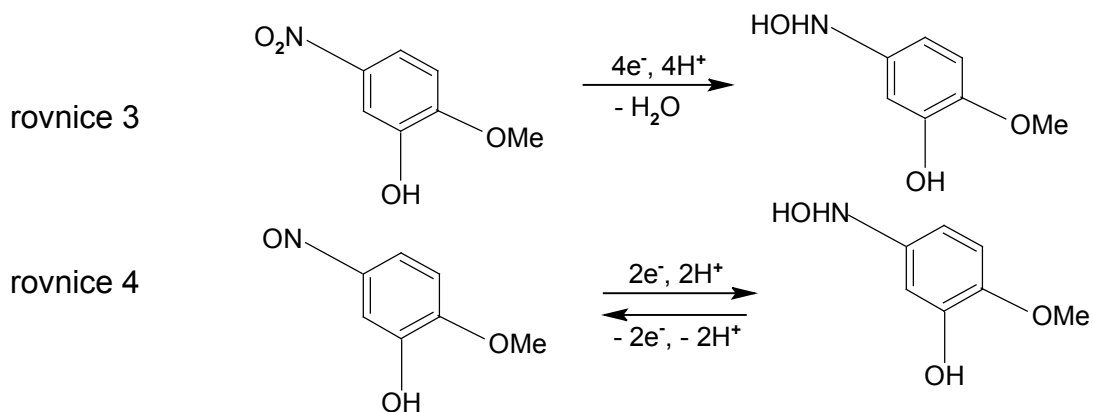
<i>pH</i>	<i>Katodický pík</i>	<i>Anodický pík</i>	<i>Směrnice [nA.mV^{-1/2}.s^{1/2}]</i>	<i>Úsek [nA]</i>	<i>Korelační koeficient</i>
2	p ^{c1}		-16,79	-59,9	-0,9948
	p ^{c2}		-7,90	22,6	-0,9954
6	p ^{c3}		-7,10	18,3	-0,9873
	p ^{c4}		-14,63	-65,7	-0,9975
		p ^{a3}	12,42	-44,0	0,9981
10	p ^{c5}		-4,16	14,7	-0,9968
	p ^{c6}		-5,48	-41,7	-0,9955
	p ^{c7}		-6,95	14,0	-0,9980
		p ^{a5}	6,33	-34,4	0,9998

Na základě výsledků cyklické voltametrie lze pro redukci 2-methoxy-5-nitrofenolu na m-AgSAE navrhnout následující mechanismus.

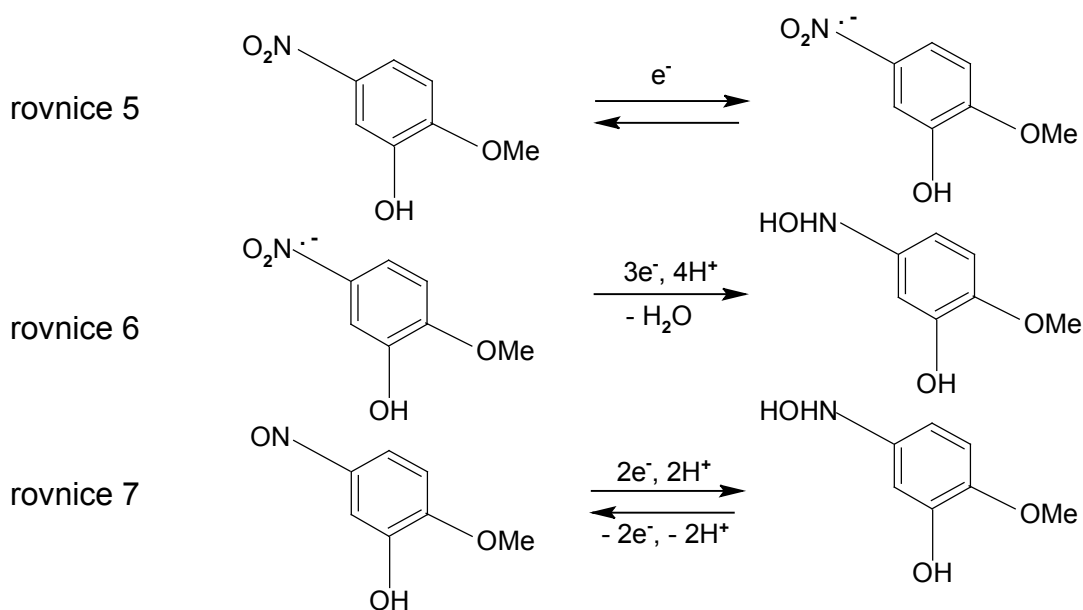
Předpokládaný mechanismus elektrochemické reakce v kyselém prostředí:



Předpokládaný mechanismus elektrochemické reakce v neutrálním prostředí:



Předpokládaný mechanismus elektrochemické reakce v zásaditém prostředí:



6 Voltametrické stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě

6.1 DC voltametrie 2-methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě v anodické oblasti

6.1.1 Vliv pH

Vliv pH na chování 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené s regenerací metodou D CV na CFE bylo sledováno v prostředí BR pufru o pH 2,0 – 12,0, regenerační potenciály $E_{in} = 100 \text{ mV}$; $E_{fin} = 600 \text{ mV}$. Získané voltamogramy jsou na Obr. 21. Látka v celém rozmezí pH poskytuje jednu vlnu.

Metodou lineární regrese bylo pro závislost potenciálu vlny E_v na pH pufru v rozmezí pH 2,0 – 6,0 vypočten vztah:

$$E_v (\text{mV}) = -50,1 \text{ pH} + 1154 \quad (R = -0,9809)$$

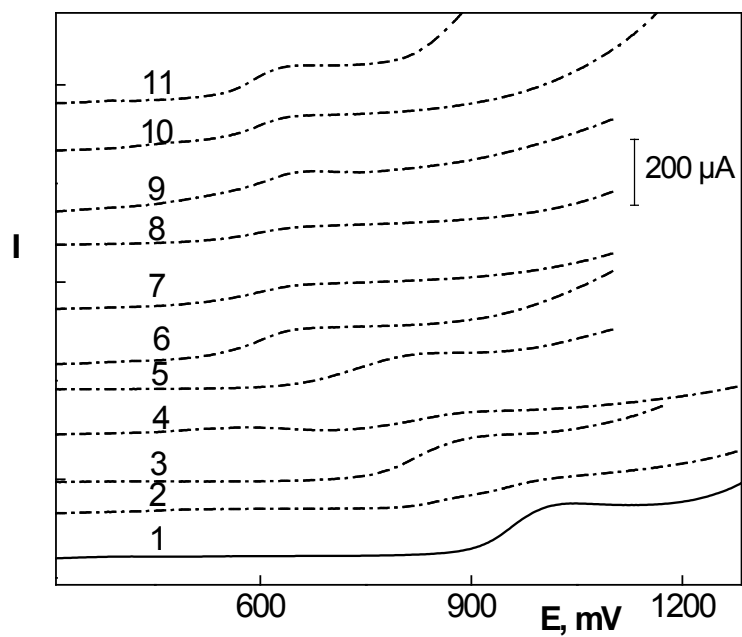
a v rozmezí pH 7,0 – 12,0 vypočten vztah:

$$E_v (\text{mV}) = -11,4 \text{ pH} + 771 \quad (R = -0,9971)$$

Při pH 7,0 – 12,0 je potenciál vln na pH téměř nezávislý. Zjištěné závislosti potenciálu vlny E_v a proudu vlny I_v na pH roztoku jsou uvedeny v Tab. 10, graficky jsou závislosti E_v na pH znázorněny na Obr. 22.

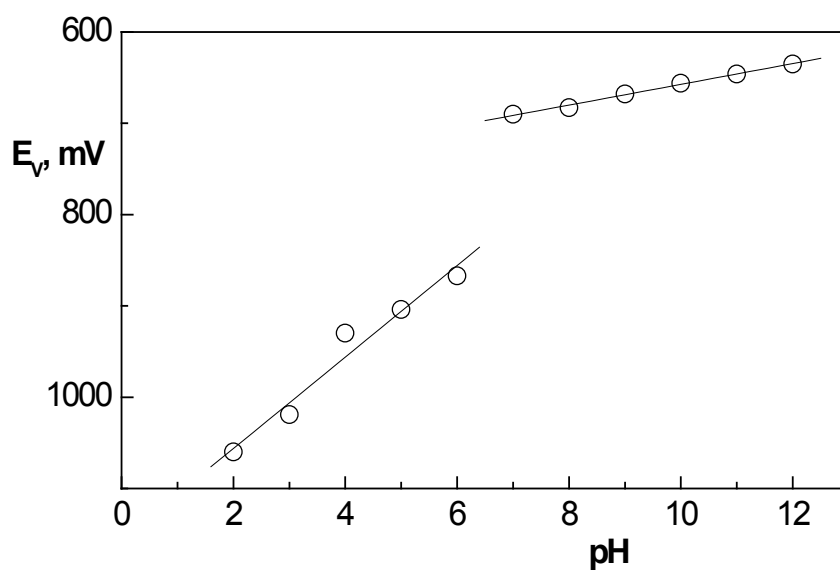
Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR pufru o pH 2,0, jelikož v tomto prostředí látka poskytovala nejvyšší a nejlépe vyvinutou vlnu.

Opakovaným měřením roztoku 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 byla sledována možná pasivace elektrody. Na elektrodu byly vkládány různé regenerační potenciály E_{in} a E_{fin} a bylo též testováno měření bez regenerace. Pro opakované měření jedné vlny při pH 2,0 bylo zvoleno měření s regeneračními potenciály $E_{in} = 130 \text{ mV}$; $E_{fin} = 600 \text{ mV}$, protože toto měření poskytovalo lépe opakovatelný signál. Opakovatelnost signálu 2-methoxy-5-nitrofenolu je zobrazena na Obr. 23.



Obr. 21

DC voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1); pH 3,0 (2); pH 4,0 (3); pH 5,0 (4); pH 6,0 (5); pH 7,0 (6); pH 8,0 (7); pH 9,0 (8); pH 10,0 (9); pH 11,0 (10); pH 12,0 (11).



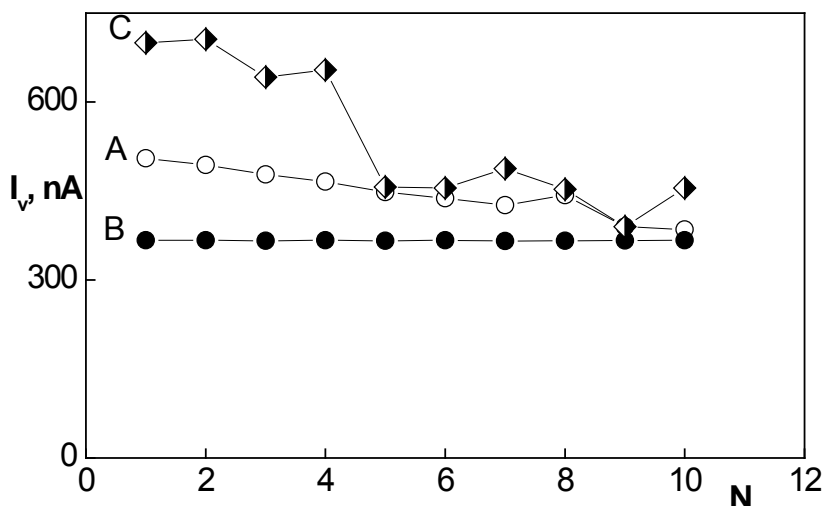
Obr. 22

Závislost potenciálu vlny E_v 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku, měřená metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru.

Tab. 10

Vliv pH na DC voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE v prostředí BR pufru.

pH	$E_v (mV)$	$I_v (nA)$
2,0	1060	1530
3,0	1019	371
4,0	930	954
5,0	904	298
6,0	867	982
7,0	690	715
8,0	683	448
9,0	668	256
10,0	656	524
11,0	646	373
12,0	635	538



Obr. 23

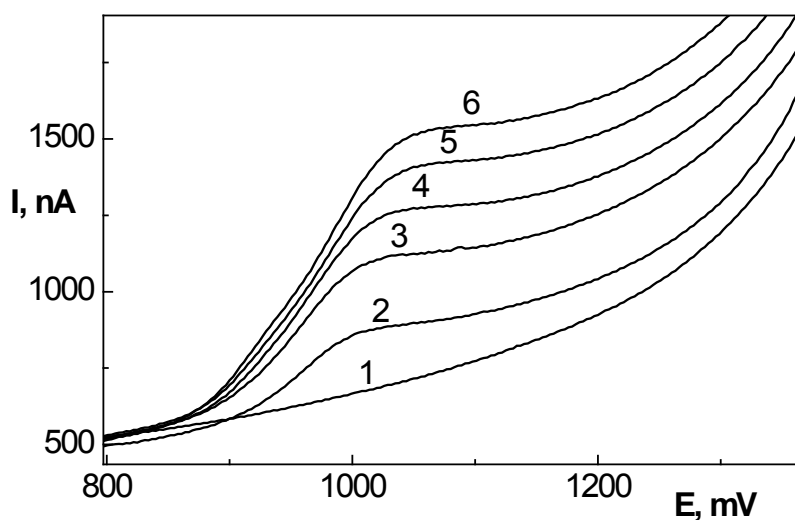
Závislost proudu vlny I_p na počtu měření N při DCV 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE, měřeno v prostředí BR pufru o pH 2,0. Opakované měření s regeneračními potenciály $E_{in} = 100 \text{ mV}$; $E_{fin} = 630 \text{ mV}$ (A), opakované měření s regeneračními potenciály $E_{in} = 130 \text{ mV}$; $E_{fin} = 600 \text{ mV}$ (B), opakované měření bez regenerace (C).

6.1.2 Koncentrační závislost

Koncentrační závislost pro 2-methoxy-5-nitrofenol byla měřena s regenerací metodou DCV na CFE prostředí BR pufru o pH 2,0 v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ a $(2 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$, regenerační potenciály $E_{in} = 130 \text{ mV}$; $E_{fin} = 600 \text{ mV}$. Voltamogramy pro příslušná koncentrační rozmezí jsou Obr. 24 a 26.

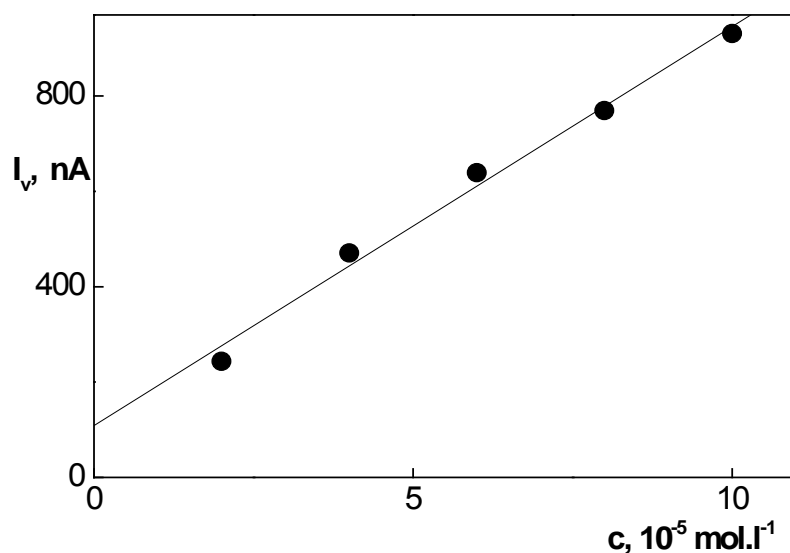
Měřené kalibrační závislosti byly lineární v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Kalibrační závislosti výšek vln na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu pro daná koncentrační rozmezí jsou uvedeny na Obr. 25 a 27. Parametry kalibračních přímk a mez stanovitelnosti jsou uvedeny v Tab 11.

Pro pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $3,8 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$.



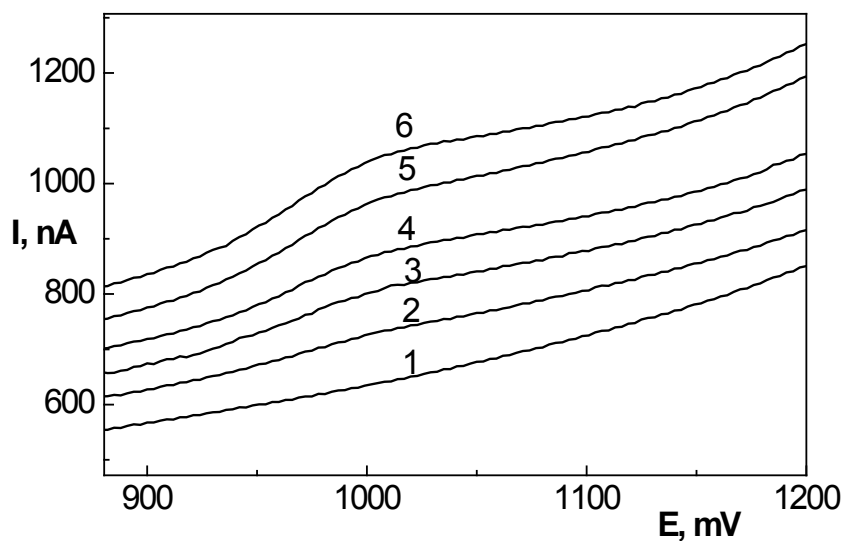
Obr. 24

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené s regenerací metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0. Koncentrace látky byla: 0 (1); $2 \cdot 10^{-5}$ (2); $4 \cdot 10^{-5}$ (3); $6 \cdot 10^{-5}$ (4); $8 \cdot 10^{-5}$ (5); $1 \cdot 10^{-4}$ (6) mol.l^{-1} . Regenerační potenciály $E_{\text{in}} = 130 \text{ mV}$; $E_{\text{fin}} = 600 \text{ mV}$.



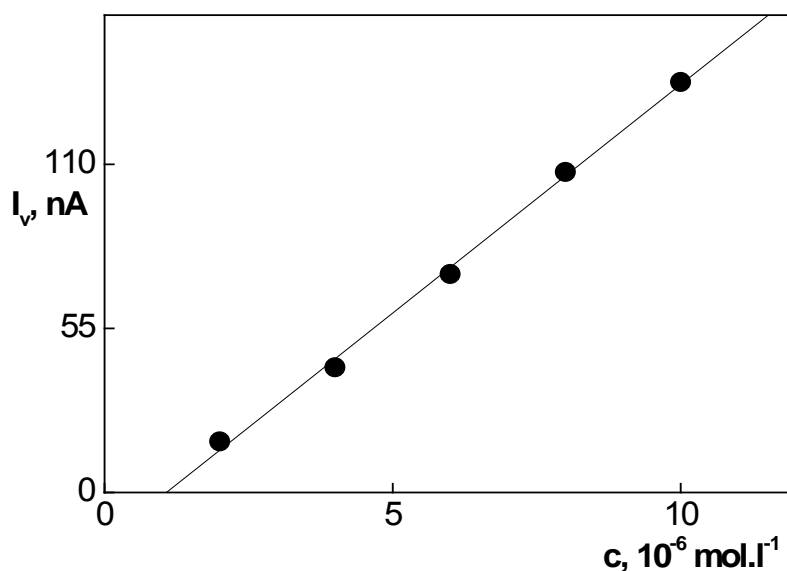
Obr. 25

Závislost proudu v lny I_v na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu v rozmezí $(2 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}) \text{ mol.l}^{-1}$ měřeno metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 s regeneračními potenciály $E_{\text{in}} = 130 \text{ mV}$, $E_{\text{fin}} = 600 \text{ mV}$.



Obr. 26

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené s regenerací metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0. Koncentrace látky byla: 0 (1); $2 \cdot 10^{-6}$ (2); $4 \cdot 10^{-6}$ (3); $6 \cdot 10^{-6}$ (4); $8 \cdot 10^{-6}$ (5); $1 \cdot 10^{-5}$ (6) $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Regenerační potenciály $E_{\text{in}} = 130 \text{ mV}$; $E_{\text{fin}} = 600 \text{ mV}$.



Obr. 27

Závislost proudu v lny I_v na koncentraci 2 -methoxy-5-nitrofenolu v rozmezí $(2 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-5}) \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ měřeno metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 s regeneračními potenciály $E_{\text{in}} = 130 \text{ mV}$, $E_{\text{fin}} = 600 \text{ mV}$.

Tab. 11

Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu metodou DCV na CFE v prostřední BR pufru o pH 2,0 s regeneračními potenciály $E_{in} = 130 \text{ mV}$; $E_{fin} = 600 \text{ mV}$.

<i>Koncentrace</i> [mol.l ⁻¹]	<i>Směrnice</i> [nA.mol ⁻¹ .l]	<i>Úsek</i> [nA]	<i>Koef.</i> <i>korelace</i>	<i>LOD</i> [mol.l ⁻¹]
(2 – 10).10 ⁻⁵	8,37.10 ⁶	108,6	0,9948	—
(2 – 10).10 ⁻⁶	1,53.10 ⁷	-16,5	0,9987	3,8.10 ⁻⁶

6.2 DP voltametrie 2-methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě v anodické oblasti

6.2.1 Vliv pH

Vliv pH na chování 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené s regenerací metodou DPV na CFE byl sledován v prostředí BR pufru o pH 2,0 – 12,0, regenerační potenciály $E_{in} = 100 \text{ mV}$; $E_{fin} = 600 \text{ mV}$. Získané voltamogramy jsou na Obr. 28. Látka v celém rozmezí pH poskytuje jeden pík.

Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu píku E_p na pH pufru v rozmezí pH 2,0 – 6,0 vypočten vztah:

$$E_p (\text{mV}) = -50,2 \text{ pH} + 1075 \quad (R = -0,9945)$$

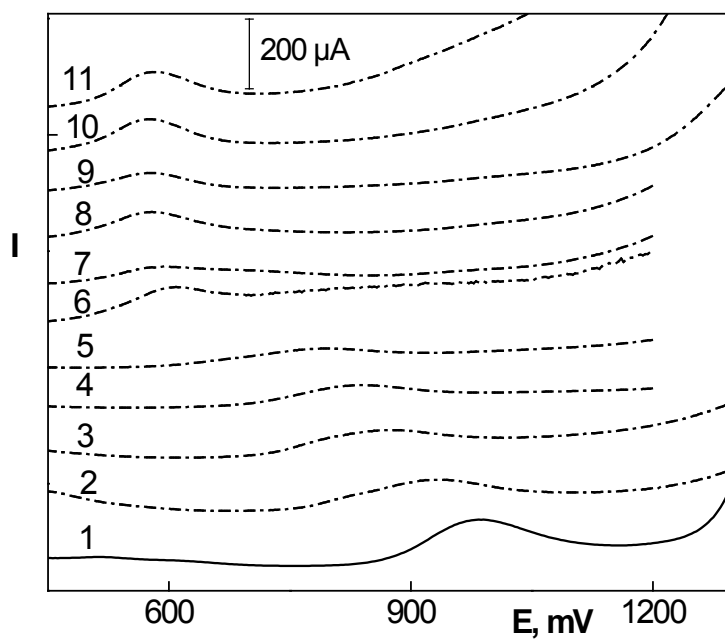
a v rozmezí pH 7,0 – 12,0 vypočten vztah:

$$E_p (\text{mV}) = -4,6 \text{ pH} + 627 \quad (R = -0,7939)$$

Při pH 7,0 – 12,0 je potenciál píku na pH téměř nezávislý. Zjištěné závislosti potenciálu píku E_p a proudu píku I_p na pH roztoku jsou uvedeny v Tab. 12, graficky jsou závislosti E_p na pH znázorněny na Obr. 29.

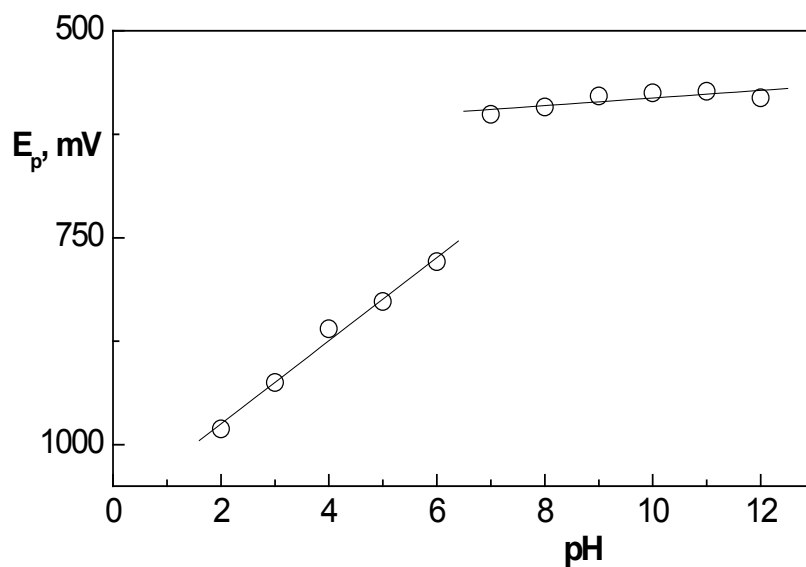
Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR pufru o pH 2,0, jelikož v tomto prostředí látka poskytovala nejvyšší a nejlépe vyvinutý pík.

Opakovaným měřením roztoku 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 byla sledována možná pasivace elektrody. Na elektrodu byl vložen potenciál $E_{in} = 100 \text{ mV}$; $E_{fin} = 630 \text{ mV}$ a pak bylo také otestováno měření bez regenerace. Pro opakované měření jednoho píku při pH 2,0 bylo zvoleno měření bez regenerace, protože toto měření poskytovalo lépe opakovatelný signál. Opakovatelnost signálu 2-methoxy-5-nitrofenolu je znázorněna na Obr. 30.



Obr. 28

DP voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE v prostředí BR o pH 2,0 (1); pH 3,0 (2); pH 4,0 (3); pH 5,0 (4); pH 6,0 (5); pH 7,0 (6); pH 8,0 (7); pH 9,0 (8); pH 10,0 (9); pH 11,0 (10); pH 12,0 (11).



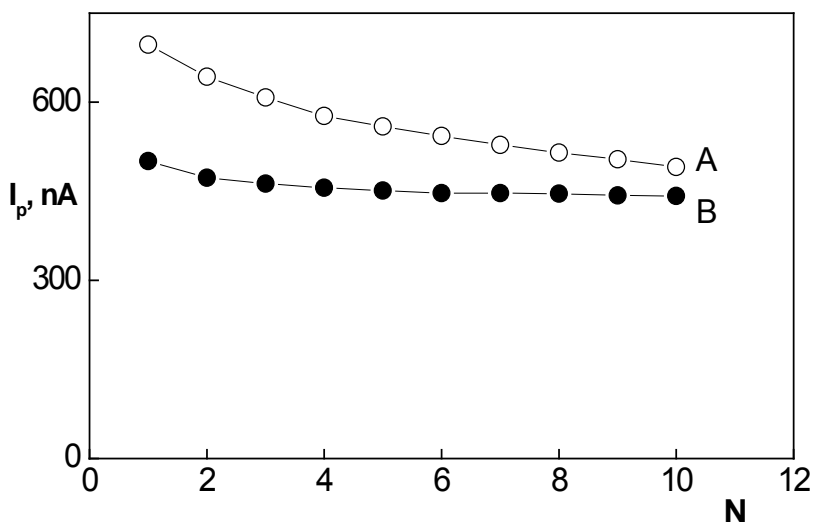
Obr. 29

Závislost potenciálu píku E_p 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru.

Tab. 12

Vliv pH na DP v oltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CF E v prostředí BR pufru.

pH	$E_p (mV)$	$I_p (nA)$
2,0	981	761
3,0	925	454
4,0	860	361
5,0	827	344
6,0	779	225
7,0	601	411
8,0	592	303
9,0	579	522
10,0	575	364
11,0	628	628
12,0	606	606



Obr. 30

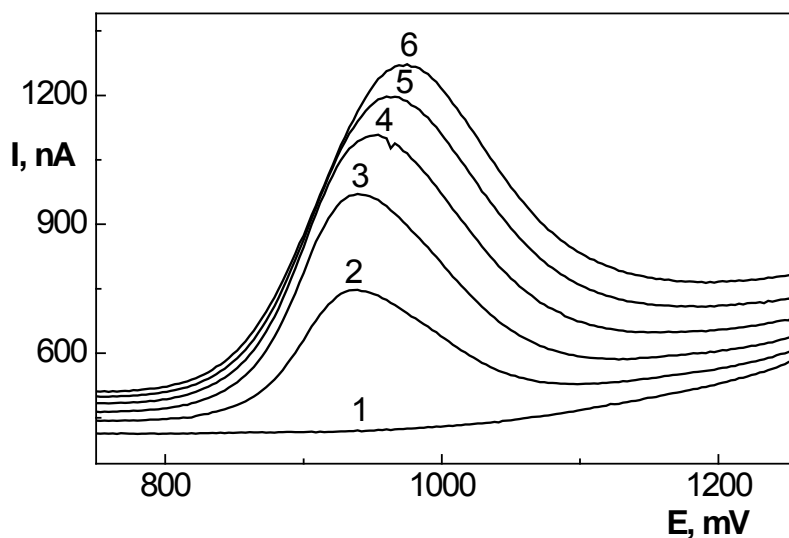
Závislost proudu I_p na počtu měření N při DPV 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE, měřeno v prostředí BR pufru o pH 2,0. Opakované měření s regeneračními potenciály $E_{in} = 100 \text{ mV}$; $E_{fin} = 630 \text{ mV}$ (A), opakované měření bez regenerace (B).

6.2.2 Koncentrační závislost

Koncentrační závislost pro 2-methoxy-5-nitrofenol byla měřena bez regenerace metodou DPV na CFE prostředí BR pufru o pH 2,0 v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ a $(2 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$. Voltamogramy pro příslušná koncentrační rozmezí jsou na Obr. 31 a 33.

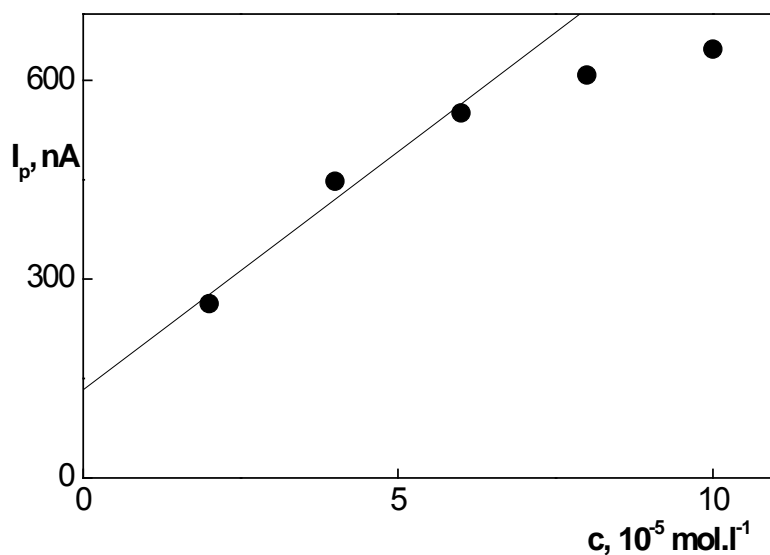
Měřené kalibrační závislosti byly lineární v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-6}$ až $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$. Při vysokých koncentracích 2-methoxy-5-nitrofenolu ($8 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) docházelo k odchylce od přímky, tj. signál byl nižší než by odpovídalo lineární závislosti. Kalibrační závislosti výšek píků na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu pro daná koncentrační rozmezí jsou uvedeny na Obr. 32 a 34. Parametry kalibračních přímek a mez stanovitelnosti jsou uvedeny v Tab 13.

Pro pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $1,7 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$.



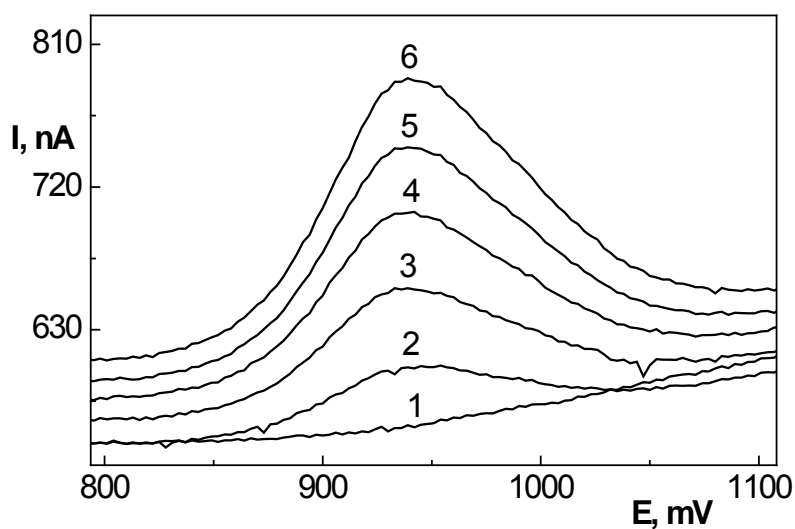
Obr. 31

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené bez regenerace metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0. Koncentrace látky byla 0 (1); $2 \cdot 10^{-5}$ (2); $4 \cdot 10^{-5}$ (3); $6 \cdot 10^{-5}$ (4); $8 \cdot 10^{-5}$ (5); $1 \cdot 10^{-4}$ (6) mol.l^{-1} .



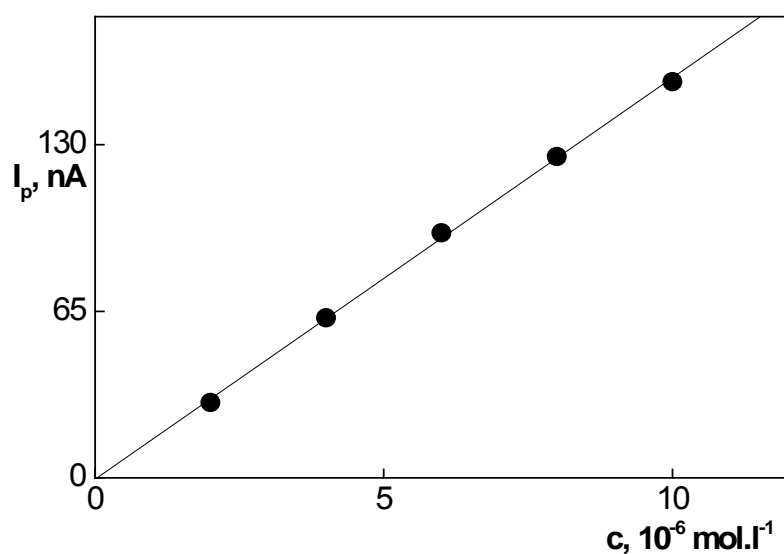
Obr. 32

Závislost proudu p íku I_p na k oncentraci 2 -methoxy-5-nitrofenolu v rozmezí ($2 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$) mol.l^{-1} . Měřena metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 bez regenerace. Lineární přímka byla prokládána v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-5}$ až $6 \cdot 10^{-5}$ mol.l^{-1}



Obr. 33

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené bez regenerace metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0. Koncentrace látky byla 0 (1); $2 \cdot 10^{-6}$ (2); $4 \cdot 10^{-6}$ (3); $6 \cdot 10^{-6}$ (4); $8 \cdot 10^{-6}$ (5); $1 \cdot 10^{-5}$ (6) mol.l^{-1} .



Obr. 34

Závislost proudu I_p na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu v rozmezí $(2 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-5}) \text{ mol.l}^{-1}$. Měřena metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 bez regenerace.

Tab. 13

Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 bez regenerace.

<i>Koncentrace</i> <i>[mol.l⁻¹]</i>	<i>Směrnice</i> <i>[nA.mol⁻¹.l]</i>	<i>Úsek</i> <i>[nA]</i>	<i>Koef.</i> <i>korelace</i>	<i>LOD</i> <i>[mol.l⁻¹]</i>
$(2 - 6) \cdot 10^{-5}$	$7,19 \cdot 10^6$	132,8	0,9869	—
$(2 - 10) \cdot 10^{-6}$	$1,57 \cdot 10^7$	-0,5	0,9995	$1,7 \cdot 10^{-6}$

7 DC voltametrie 2-methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě v katodické oblasti

7.1.1 Vliv pH

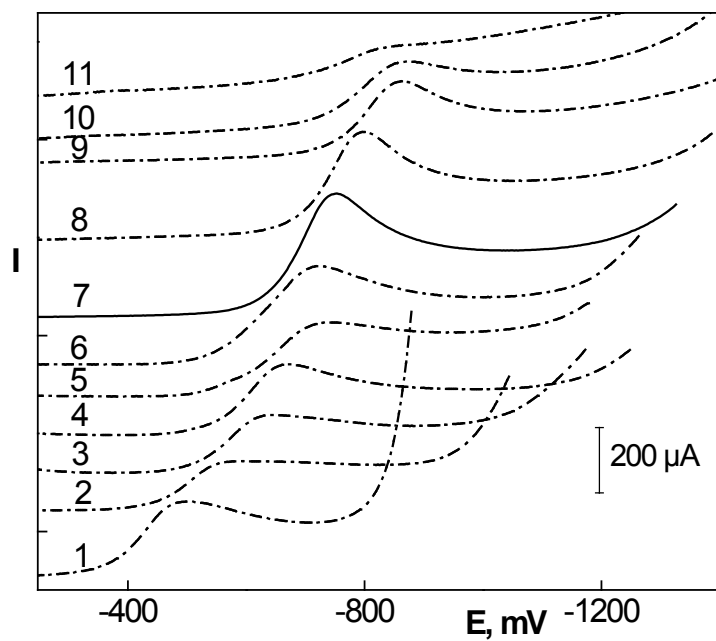
Vliv pH na chování 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené s regenerací metodou D CV na CFE byl sledován v prostředí BR pufru o pH 2,0 – 12,0, regenerační potenciály $E_{in} = 100 \text{ mV}$; $E_{fin} = 600 \text{ mV}$. Získané voltamogramy jsou na Obr. 35. Látka v celém rozmezí pH poskytuje jednu vlnu. Potenciál vlny E_v se s rostoucím pH posouvá k zápornějším hodnotám, což zřejmě souvisí s předřazenou protonizací analytu. Zjištěné závislosti potenciálu vlny E_v a proudu vlny I_v na pH roztoku jsou uvedeny v Tab. 14, graficky jsou závislosti E_v na pH znázorněny na Obr. 36.

Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu E_v na pH pufru v rozmezí pH 2,0 – 11,0 vypočten vztah:

$$E_v (\text{mV}) = -37 \text{ pH} - 472 \quad (R = -0,9743)$$

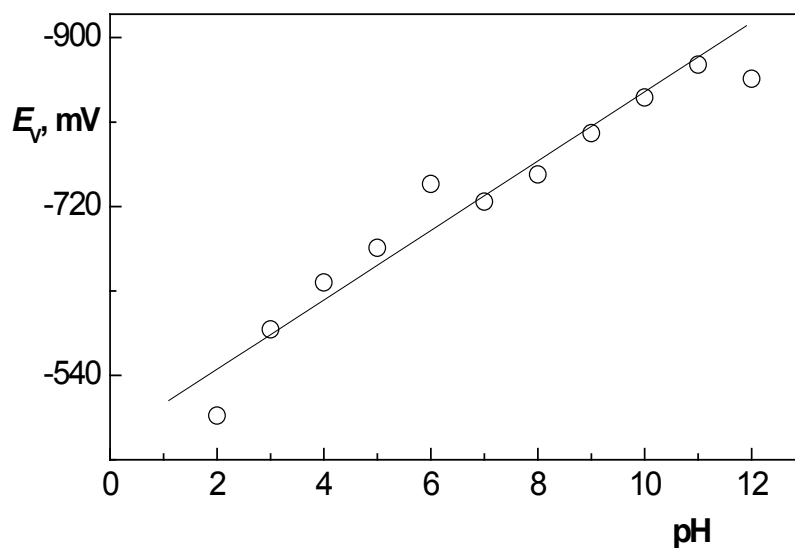
Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR pufru o pH 8,0, jelikož v tomto prostředí látka poskytovala nejvyšší a nejlépe vyvinutou vlnu.

Opakovaným měřením roztoku 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 8,0 byla sledována množná pasivace elektrody. Na elektrodu byly vloženy různé potenciály E_{in} a E_{fin} a bylo též testováno měření bez regenerace. Pro opakované měření jedné vlny pro pH 8,0 bylo zvoleno měření s regeneračními potenciály $E_{in} = 130 \text{ mV}$; $E_{fin} = 580 \text{ mV}$, protože toto měření poskytovalo lépe opakovatelný signál. Opakovatelnost signálu 2-methoxy-5-nitrofenolu je zobrazena na Obr. 37.



Obr. 35

DC voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1); pH 3,0 (2); pH 4,0 (3); pH 5,0 (4); pH 6,0 (5); pH 7,0 (6); pH 8,0 (7); pH 9,0 (8); pH 10,0 (9); pH 11,0 (10); pH 12,0 (11).



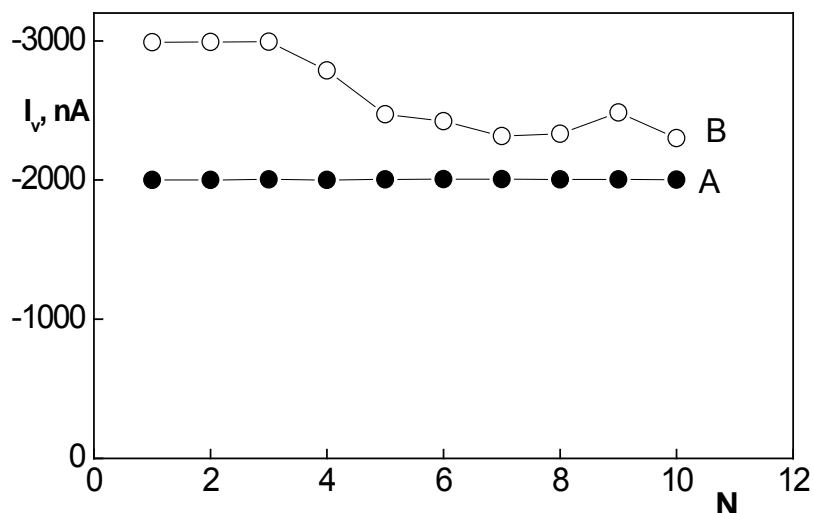
Obr. 36

Závislost potenciálu vlny E_v 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku, měřené metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru.

Tab. 14

Vliv pH na DC voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE v prostředí BR pufru.

pH	E_v (mV)	I_v (nA)
2,0	-497	-2041
3,0	-589	-1557
4,0	-639	-1577
5,0	-676	-2204
6,0	-744	-2259
7,0	-725	-2976
8,0	-754	-3566
9,0	-798	-3000
10,0	-836	-2151
11,0	-646	-1746
12,0	-635	-697



Obr. 37

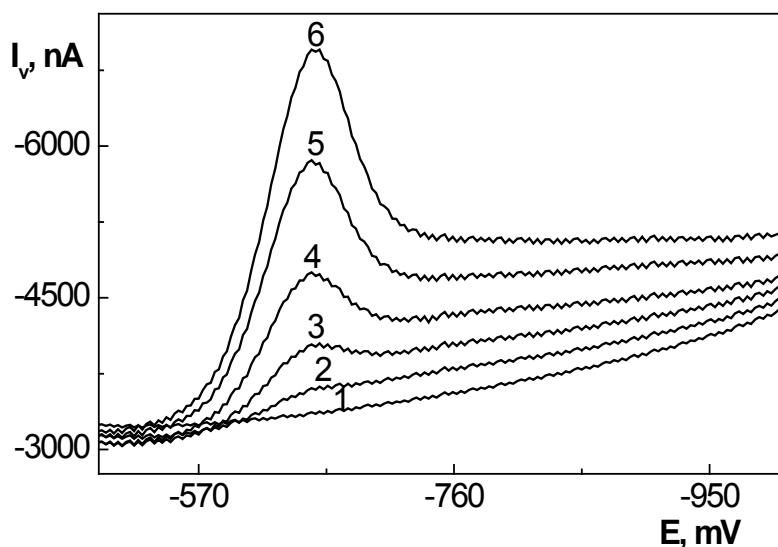
Závislosti proudu v lny I_v na počtu měření N při DCV 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE, měřeno v prostředí BR pufru o pH 8,0. Opakované měření s regeneračními potenciály $E_{in} = 130 \text{ mV}$; $E_{fin} = 580 \text{ mV}$ (A), opakované měření s regeneračními potenciály $E_{in} = 100 \text{ mV}$; $E_{fin} = 630 \text{ mV}$ (B).

7.1.2 Koncentrační závislost

Koncentrační závislost pro 2-methoxy-5-nitrofenol byla měřena s regenerací metodou DCV na CFE prostředí BR pufru o pH 8,0 v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ a $(2 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$. Voltamogramy pro příslušná koncentrační rozmezí jsou na Obr. 38 a 40.

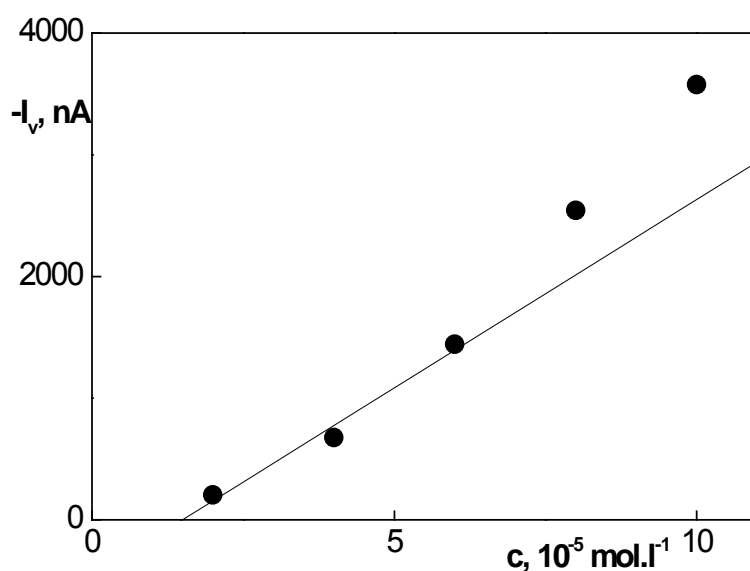
Měřené kalibrační závislosti byly lineární v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-6}$ až $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$. Při vysokých koncentracích 2-methoxy-5-nitrofenolu ($8 \cdot 10^{-5} - 10 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) opakovaně docházelo k odchylce od přímky, tj. signál byl vyšší než by odpovídalo lineární závislosti. Tato skutečnost může souviset s adsorpcí při vyšších koncentracích elektrolytu. Kalibrační závislosti výšek vln na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu pro daná koncentrační rozmezí jsou uvedeny na Obr. 39 a 41. Parametry kalibračních přímek a mez stanovitelnosti jsou uvedeny v Tab 15.

Pro pH 8,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $5,1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$.



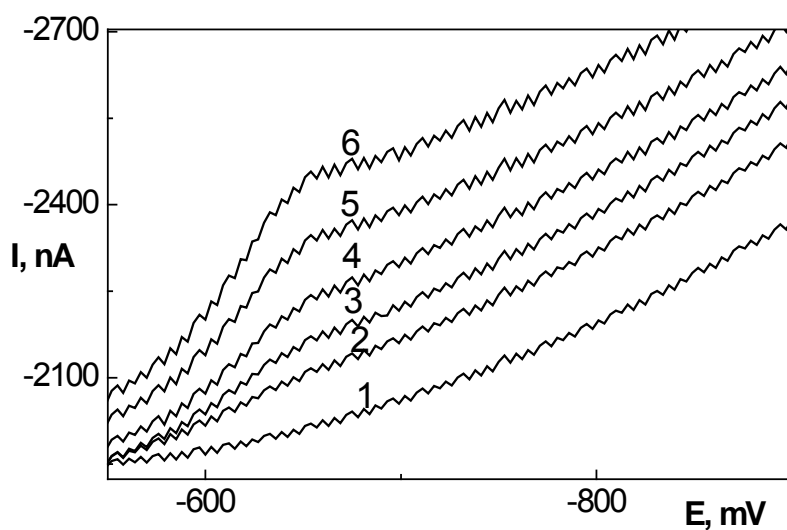
Obr. 38

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené s regenerací metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 8,0. Koncentrace látky byla: 0 (1); $2 \cdot 10^{-5}$ (2); $4 \cdot 10^{-5}$ (3); $6 \cdot 10^{-5}$ (4); $8 \cdot 10^{-5}$ (5); $1 \cdot 10^{-4}$ (6) mol.l^{-1} . Regenerační potenciály $E_{\text{in}} = 130 \text{ mV}$; $E_{\text{fin}} = 580 \text{ mV}$.



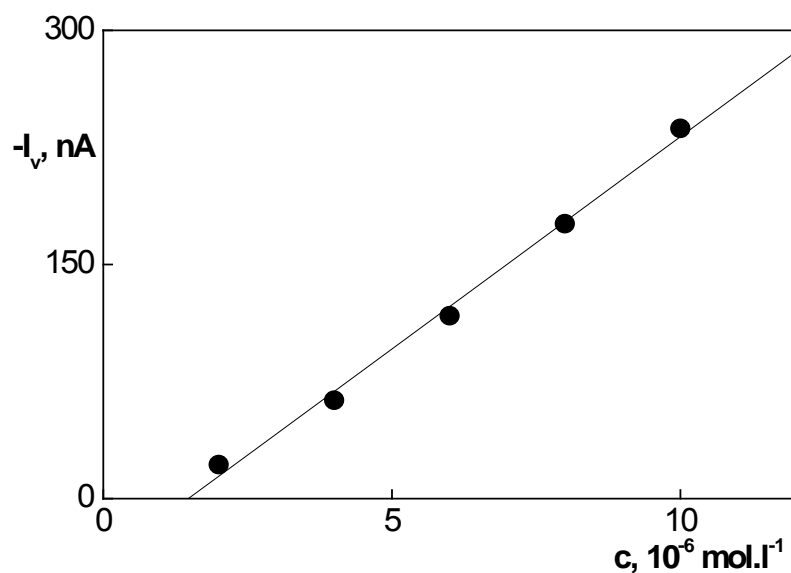
Obr. 39

Závislost proudu I_v na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu v rozmezí $(2 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}) \text{ mol.l}^{-1}$ měřeno metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 8,0 s regeneračními potenciály $E_{\text{in}} = 130 \text{ mV}$; $E_{\text{fin}} = 580 \text{ mV}$. Lineární přímka byla prokládána v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-5}$ až $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$



Obr. 40

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené s regenerací metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 8,0. Koncentrace látky byla: 0 (1); $2 \cdot 10^{-6}$ (2); $4 \cdot 10^{-6}$ (3); $6 \cdot 10^{-6}$ (4); $8 \cdot 10^{-6}$ (5); $1 \cdot 10^{-5}$ (6) mol.l^{-1} . Regenerační potenciály $E_{\text{in}} = 130 \text{ mV}$; $E_{\text{fin}} = 580 \text{ mV}$.



Obr. 41

Závislost proudu I_p na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu v rozmezí $(2 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-5}) \text{ mol.l}^{-1}$ měřeno metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 8,0 s regeneračními potenciály $E_{\text{in}} = 130 \text{ mV}$; $E_{\text{fin}} = 580 \text{ mV}$.

Tab. 15

Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu metodou DCV na CFE v prostředí BR pufru o pH 8,0 s regeneračními potenciály $E_{in} = 130 \text{ mV}$; $E_{fin} = 580 \text{ mV}$.

<i>Koncentrace</i> [mol.l ⁻¹]	<i>Směrnice</i> [nA.mol ⁻¹ .l]	<i>Úsek</i> [nA]	<i>Koef.</i> korelace	<i>LOD</i> [mol.l ⁻¹]
(2 – 6).10 ⁻⁵	-3,10.10 ⁷	463,7	0,9909	—
(2 – 10).10 ⁻⁶	-2,73.10 ⁷	40,7	0,9976	5,1.10 ⁻⁶

8 DP voltametrie 2-methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě v katodické oblasti

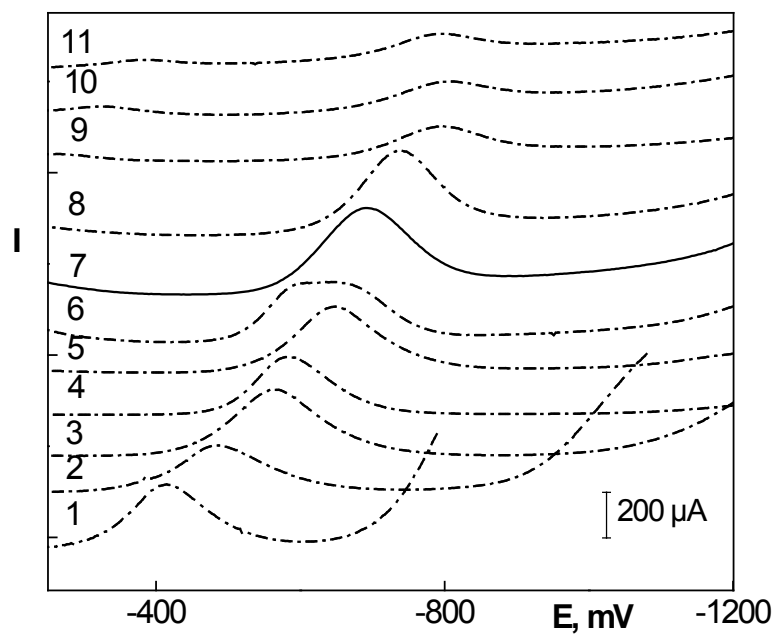
8.1.1 Vliv pH

Vliv pH na chování 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené s regenerací metodou DPV na CFE byl sledován v prostředí BR pufru o pH 2,0 – 12,0, regenerační potenciály $E_{in} = 100 \text{ mV}$; $E_{fin} = 600 \text{ mV}$. Získané voltamogramy jsou na Obr. 42. Látka v celém rozmezí pH poskytuje jeden pík. Potenciál všech píků E_p se s rostoucím pH posouvá k zápornějším hodnotám, což zřejmě souvisí s předřazenou protonizací analytu. Zjištěné závislosti potenciálu píku E_p a proudu píku I_p na pH roztoku jsou uvedeny v Tab. 16, graficky jsou závislosti E_p na pH znázorněny na Obr. 43.

Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu E_p na pH pufru v rozmezí pH 2,0 – 10,0 vypočten vztah:

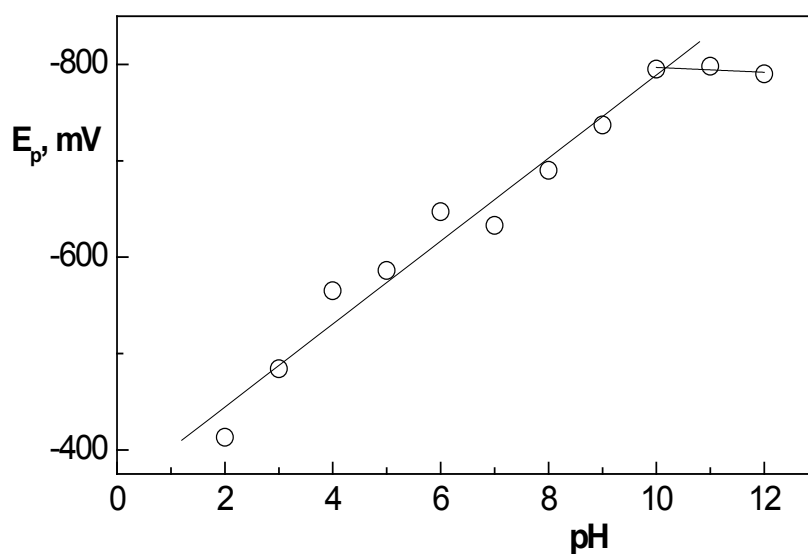
$$E_v (\text{mV}) = -43 \text{ pH} - 358 \quad (R = -0,9814)$$

Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR pufru o pH 8,0, jelikož v tomto prostředí látka poskytovala nejvyšší a nej lépe vyvinutý pík. Opakovaným měřením roztoku 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 8,0 byla sledována možnost pasivace elektrody. Na elektrodu byl vložen potenciál $E_{in} = 100 \text{ mV}$; $E_{fin} = 630 \text{ mV}$ a pak bylo také otestováno měření bez regenerace. Pro opakované měření jednoho píku pro pH 8,0 bylo zvoleno měření bez regenerace, protože toto měření poskytovalo lépe opakovatelný signál. Opakovatelnost signálu 2-methoxy-5-nitrofenolu je zobrazena na Obr. 44.



Obr. 42

DP voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1); pH 3,0 (2); pH 4,0 (3); pH 5,0 (4); pH 6,0 (5); pH 7,0 (6); pH 8,0 (7); pH 9,0 (8); pH 10,0 (9); pH 11,0 (10); pH 12,0 (11).



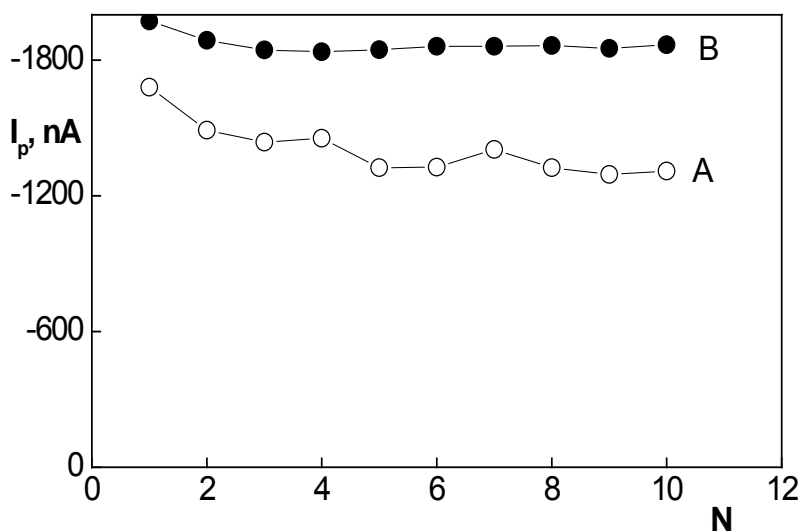
Obr. 43

Závislosti potenciálu pí ku E_p 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku, měřena metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru.

Tab. 16

Vliv pH na DP v oltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenoulu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE v prostředí BR pufru.

pH	E_p (mV)	I_p (nA)
2,0	-413	-2633
3,0	-484	-1962
4,0	-565	-2887
5,0	-586	-2528
6,0	-647	-2461
7,0	-633	-2730
8,0	-690	-3408
9,0	-737	-3296
10,0	-795	-1168
11,0	-798	-894
12,0	-790	-800



Obr. 44

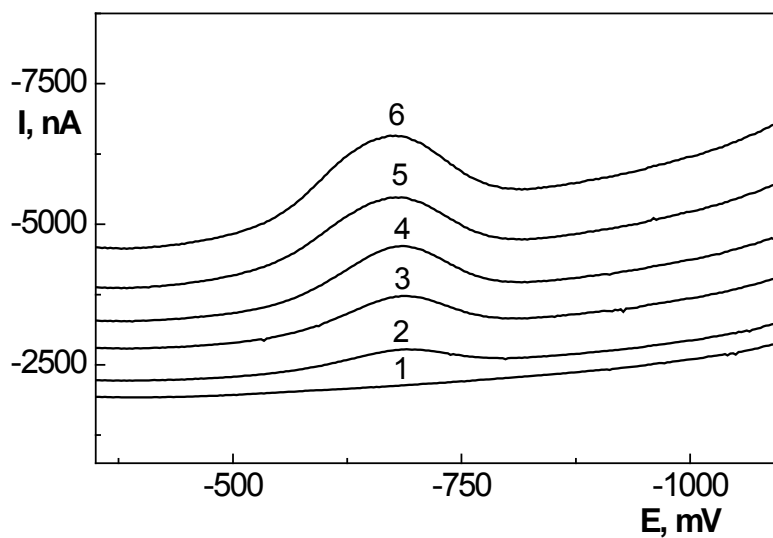
Závislost píku I_p na počtu měření N při DPV 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na CFE, měřena v prostředí BR pufru o pH 8,0. Opakované měření s regeneračními potenciály $E_{in} = 100 \text{ mV}$; $E_{fin} = 630 \text{ mV}$ (A), opakované měření bez regenerace (B).

8.1.2 Koncentrační závislost

Koncentrační závislost pro 2-methoxy-5-nitrofenol byla měřena bez regenerace metodou DPV na CFE prostředí BR pufru o pH 8,0 v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ a $(4 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$. Voltamogramy pro příslušná koncentrační rozmezí jsou na Obr. 45 a 47.

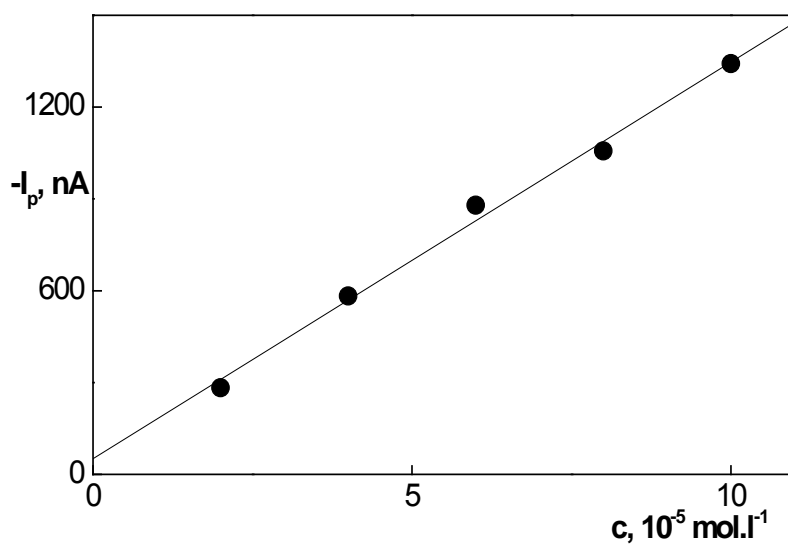
Měřené kalibrační závislosti byly lineární v koncentračním rozmezí $4 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Kalibrační závislosti výšek píků na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu pro daná koncentrační rozmezí jsou uvedeny na Obr. 46 a 48. Parametry kalibračních přímků a mez stanovitelnosti jsou uvedeny v Tab 17.

Pro pH 8,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $7,1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$.



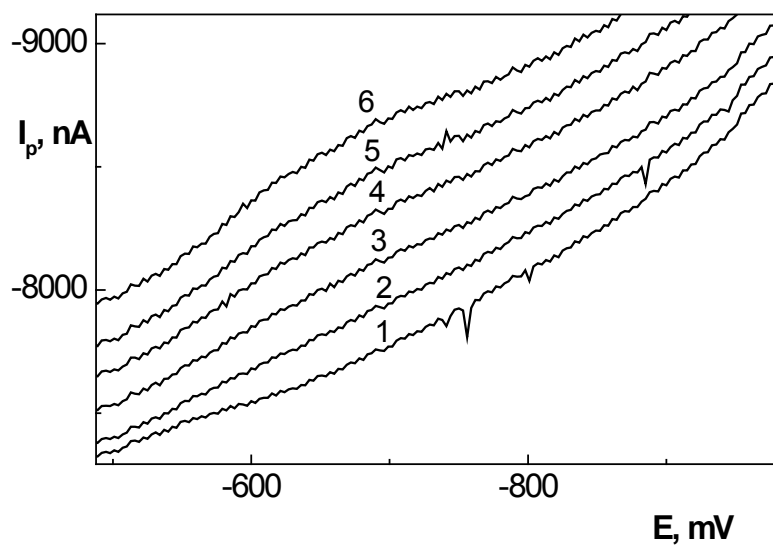
Obr. 45

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené bez regenerace metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 8,0. Koncentrace látky byla: 0 (1); $2 \cdot 10^{-5}$ (2); $4 \cdot 10^{-5}$ (3); $6 \cdot 10^{-5}$ (4); $8 \cdot 10^{-5}$ (5); $1 \cdot 10^{-4}$ (6) mol.l⁻¹.



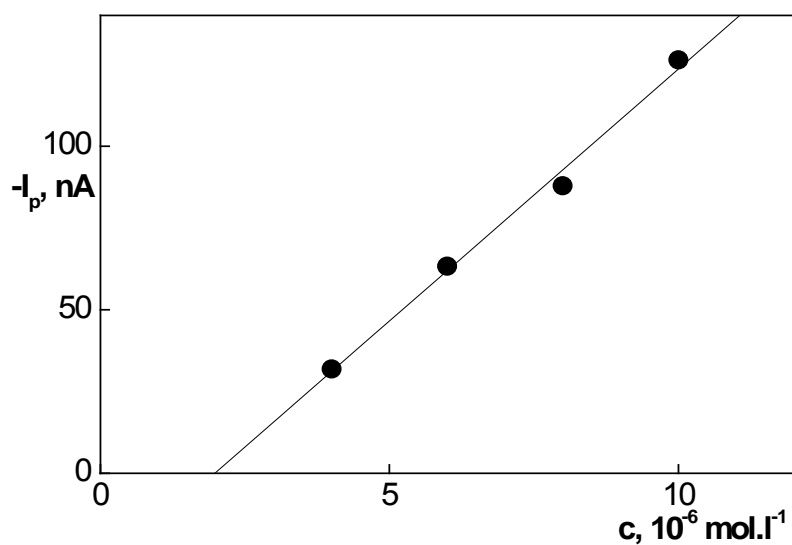
Obr. 46

Závislost proudu I_p na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu v rozmezí ($2 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$) mol.l⁻¹ měřeno metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 8,0 bez regenerace.



Obr. 47

Voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu měřené bez regenerace metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 8,0. Koncentrace látky byla: 0 (1); $2 \cdot 10^{-6}$ (2); $4 \cdot 10^{-6}$ (3); $6 \cdot 10^{-6}$ (4); $8 \cdot 10^{-6}$ (5); $1 \cdot 10^{-5}$ (6) mol.l $^{-1}$.



Obr. 48

Závislost proudu I_p na koncentraci 2-methoxy-5-nitrofenolu v rozmezí $(2 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-5})$ mol.l $^{-1}$. Měřeno metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 8,0 bez regenerace.

Tab. 17

Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu metodou DPV na CFE v prostředí BR pufru o pH 8,0 bez regenerace.

<i>Koncentrace</i> <i>[mol.l⁻¹]</i>	<i>Směrnice</i> <i>[nA.mol⁻¹.l]</i>	<i>Úsek</i> <i>[nA]</i>	<i>Koef.</i> <i>korelace</i>	<i>LOD</i> <i>[mol.l⁻¹]</i>
$(2 - 10) \cdot 10^{-5}$	$-1,30 \cdot 10^7$	-51,2	0,9967	—
$(4 - 10) \cdot 10^{-6}$	$-1,54 \cdot 10^7$	30,5	0,9964	$7,1 \cdot 10^{-6}$

9 Cyklická voltametrie 2-methoxy-5-nitrofenolu na uhlíkové filmové elektrodě

Byly proměřeny cyklické voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0; 6,0; 8,0 a 10,0 na CFE při rychlostech polarizace $10 - 500 \text{ mV.s}^{-1}$. Při měření byly zaznamenávány tři skeny. Před každým měřením byla prováděna regenerace elektrody $E_{\text{in}} = 130 \text{ mV}$; $E_{\text{fin}} = 600 \text{ mV}$.

Na Obr. 49 jsou vybrané voltamogramy naměřené v prostředí o pH 2,0; 6,0; a 10,0 při rychlostech polarizace 20 a 200 mV.s^{-1} . Z tohoto obrázku je patrné, že redukce 2-methoxy-5-nitrofenolu probíhá ireverzibilně v celé sledované oblasti pH.

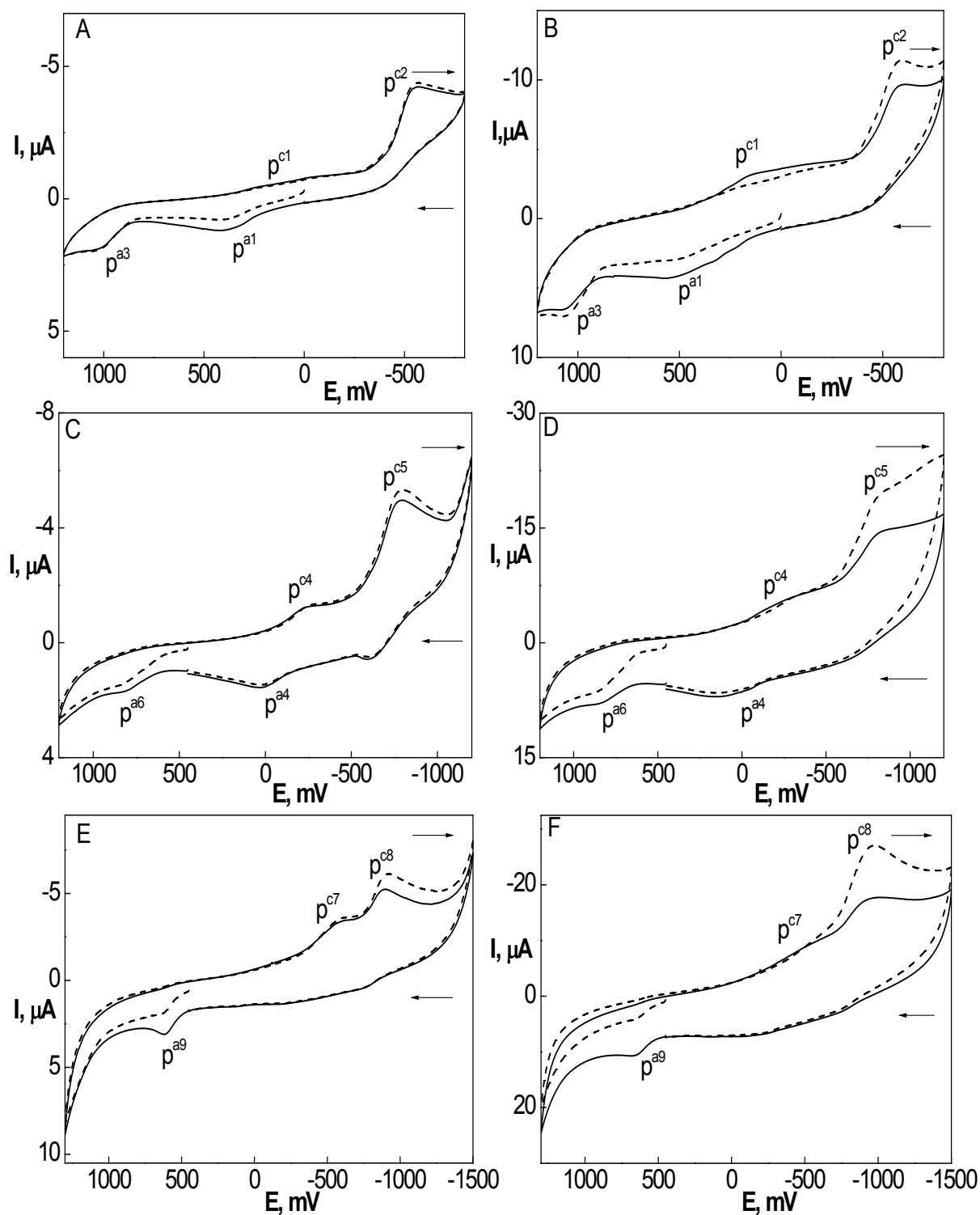
V prostředí BR pufru o pH 2,0 jsou dobře rozpoznatelné dva katodické píky (p^{c1} , p^{c2}) a dva anodické píky (p^{a1} , p^{a3}) při všech rychlostech. Katodický p^{c2} pravděpodobně odpovídá čtyřelektronové redukci nitroskupiny (ArNO_2) na (ArHOH_2N^+) podle rovnice 1. Anodický pík p^{a3} pravděpodobně odpovídá oxidaci fenolické skupiny.

V prostředí BR pufru o pH 6,0 jsou dobře rozpoznatelné dva katodické píky (p^{c4} , p^{c5}) a dva anodické píky (p^{a4} , p^{a6}) při všech rychlostech. Katodický pík p^{c5} pravděpodobně odpovídá čtyřelektronové redukci nitroskupiny (ArNO_2) na hydroxylaminoskupinu (ArNHOH) podle rovnice 3. Anodický pík p^{a6} pravděpodobně odpovídá oxidaci fenolické skupiny.

V prostředí BR pufru o pH 10,0 jsou při nižší rychlosti dobře rozpoznatelné dva katodické píky (p^{c7} , p^{c8}) a jeden anodický pík (p^{a9}). Při vyšší rychlosti se katodický pík p^{c7} spojuje s druhým katodickým píkem p^{c8} v jeden společný pík p^{c8} . Katodický pík p^{c8} pravděpodobně odpovídá jednoelektronové redukci za vzniku radikálu ArNO_2^- podle rovnice 5. Anodický pík p^{a9} pravděpodobně odpovídá oxidaci fenolické skupiny.

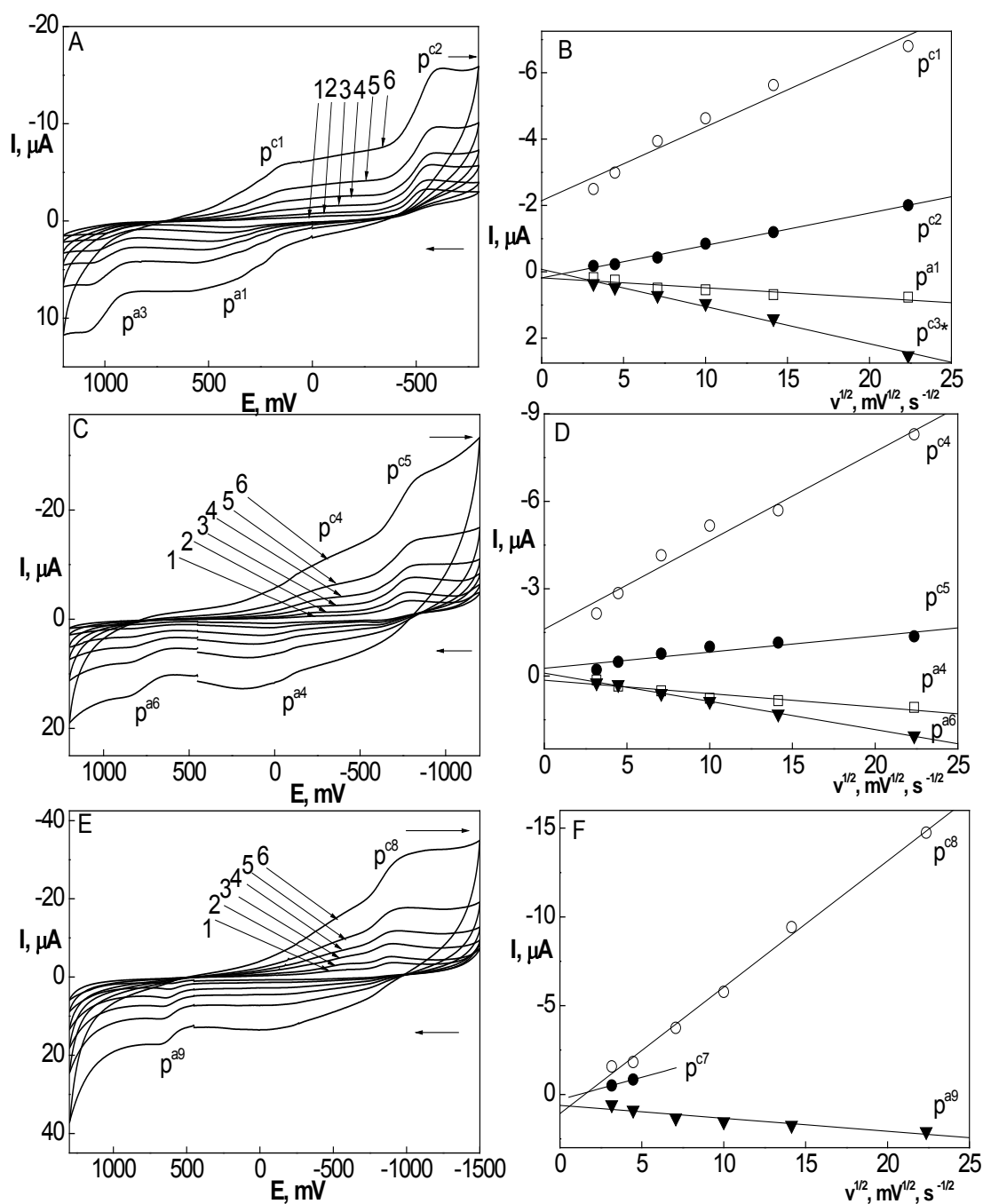
Cyklické voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v závislosti na rychlosti polarizace jsou spolu se závislostí proudu píku na odmocnině rychlosti polarizace ($v^{1/2}$) znázorněny na Obr. 50 v BR pufru o pH 2,0; 6,0; a 10,0.

Proudy píků na odmocnině rychlosti polarizace vykazují v daném rozmezí rychlostí polarizace lineární závislost, elektrochemické reakce studované látky jsou tedy řízeny difúzí. Parametry lineárních závislostí proudů píků na odmocnině rychlosti polarizace jsou shrnuty v Tab. 18.



Obr. 49

Cyklické voltamogramy 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené na CFE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (A: $v = 20 \text{ mV.s}^{-1}$, B: $v = 200 \text{ mV.s}^{-1}$), pH 6,0 (C: $v = 20 \text{ mV.s}^{-1}$, D: $v = 200 \text{ mV.s}^{-1}$) a pH 10,0 (E: $v = 20 \text{ mV.s}^{-1}$, F: $v = 200 \text{ mV.s}^{-1}$); (---) 1. sken, (—) 2. sken.



Obr. 50

Cyklické voltamogramy druhého skenu 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (A), pH 6,0 (C) pH 10,0 (E) při rychlosti polarizace 1 – 10 mV.s^{-1} , 2 – 20 mV.s^{-1} , 3 – 50 mV.s^{-1} , 4 – 100 mV.s^{-1} , 5 – 200 mV.s^{-1} , 6 – 500 mV.s^{-1} .

Závislost proudu katodických píků a anodického píků druhého skenu 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na odmocnině rychlosti polarizace ($v^{1/2}$), měřené cyklickou voltametrií na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0, (B), pH 6,0 (D), pH 10,0 (F).

Tab. 18

Parametry lineárních závislostí proudů katodických píků a anodických píků 2-methoxy-5-nitrofenolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na odmocnině rychlosti polarizace.

<i>pH</i>	<i>Katodický pík</i>	<i>Anodický pík</i>	<i>Směrnice [nA.mV^{-1/2}.s^{1/2}]</i>	<i>Úsek [nA]</i>	<i>Korelační koeficient</i>
2	p ^{c1}		-222,28	-2141,12	-0,9816
	p ^{c2}		-97,91	185,25	-0,9976
		p ^{a1}	30,00	180,55	0,9205
		p ^{a3}	112,10	-74,16	0,99463
6	p ^{c4}		-304,79	-1607,05	-0,9862
	p ^{c5}		-55,53	-265,92	-0,9288
		p ^{a4}	45,94	143,26	0,9463
		p ^{a6}	96,88	-100,643	0,9992
10	p ^{c7}		-252,09	291,88	-1,0000
	p ^{c8}		-712,01	1080,73	-0,9978
		p ^{a9}	72,91	613,79	0,9394

10 Souhrn

Byla vypracována metoda pro stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu technikou adsorpční rozpouštěcí voltametrie na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě. Byly nalezeny optimální podmínky pro studovanou látku: potenciál akumulace 100 mV a čas akumulace 600 s. Studovaná látka byla stanovena v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. V BR pufru o pH 2,0 bylo dosaženo meze detekce $3,6 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$.

Byla vypracována metoda pro snížení meze detekce 2-methoxy-5-nitrofenolu prekoncentrací technikou extrakce tuhou fází s detekcí pomocí diferenční pulzní voltametrie na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě. Byly nalezeny optimální podmínky pro studovanou látku v modelové matrici destilované vody v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$, kdy bylo dosaženo meze detekce $3,3 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$, extrakční účinnost byla 91 %. Nalezené optimální podmínky byly aplikovány také na modelovou matici říční vody v koncentračním rozmezí $(2 - 10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$, kdy bylo dosaženo meze stanovitelnosti $6,6 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$, extrakční účinnost byla 76 %.

Byla vypracována metoda s stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu technikou DC voltametrie na uhlíkové filmové elektrodě v anodické a katodické oblasti. Byly nalezeny optimální podmínky pro studovanou látku v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-6} - 6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ pro anodickou oblast a $2 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ pro katodickou oblast. Při vyšších koncentracích analytu ($8 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v anodické oblasti docházelo k nelineární závislosti proudu na napětí. Pro anodickou oblast v BR pufru o pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $3,8 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ a pro katodickou oblast v BR pufru o pH 8,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $5,1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$.

Byla vypracována metoda s stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu technikou diferenční pulzní voltametrie na uhlíkové filmové elektrodě v anodické a katodické oblasti. Byly nalezeny optimální podmínky pro studovanou látku v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-6} - 6 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ pro anodickou oblast a $2 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ pro katodickou oblast. Při vyšších koncentracích analytu ($8 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v anodické oblasti docházelo opakovaně k nelineárnímu nárůstu proudu s napětím, což může pravděpodobně souviset např. s adsorpcí na povrchu elektrody. Pro anodickou oblast v BR pufru o pH 2,0 bylo dosaženo meze stanovitelnosti $1,7 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ a pro

katodickou oblast v BR pufru o pH 8, 0 bylo dosaženo mizeštanovitelnosti $7,1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$.

Byl prostudován reakční mechanismus 2-methoxy-5-nitrofenolu pomocí cyklické voltametrie na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě a na uhlíkové filmové elektrodě.

Srovnání použitých metod a dosažené výsledky pro sřtanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu jsou uvedeny v Tab. 19.

Tab. 19

Srovnání použitých metod a dosažené výsledky pro sřtanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu.

<i>Metoda</i>	<i>Oblast</i>	<i>Elektroda</i>	<i>pH BR pufru</i>	<i>Matrice</i>	<i>LOD [mol.l⁻¹]</i>
AdSV	Katodická	m-AgSAE	2,0	BR pufr	$3,6 \cdot 10^{-7}$
SPE	Katodická	m-AgSAE	6,0	Destilovaná voda	$3,3 \cdot 10^{-7}$
SPE	Katodická	m-AgSAE	6,0	Říční voda	$6,6 \cdot 10^{-8}$
DCV	Anodická	CFE	2,0	BR pufr	$3,8 \cdot 10^{-6}$
DPV	Anodická	CFE	2,0	BR pufr	$1,7 \cdot 10^{-6}$
DCV	Katodická	CFE	8,0	BR pufr	$5,1 \cdot 10^{-6}$
DPV	Katodická	CFE	8,0	BR pufr	$7,1 \cdot 10^{-6}$

11 Literatura

1. Rosenkranz H. S., Mermelstein R.: Mutagenicity and genotoxicity of nitroarenes. All nitro-containing chemicals were not created equal. *Mutat. Res.* 114, 217 (1983).
2. IARC: Diesel and Gasoline Engine Exhausts and Some Nitroarenes (Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans, sv. 46. IARC, Lyon 1989.
3. Tokiwa H., Ohnishi Y.: Mutagenicity and carcinogenicity of nitroarenes and their sources in the environment. *Crit. Rev. Toxicol.* 17, 23 (1986).
4. Rosenkranz H. S., Mermelstein R.: The genotoxicity, metabolism and carcinogenicity of nitrated polycyclic aromatic-hydrocarbons.. *Sci. Health, Part C* 3, 221 (1985).
5. Moller L.: *In Vivo* Metabolism and Genotoxic Effects of Nitrated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environ. Health Perspect.* 102, 139 (1994).
6. Pitts Jr. J. N., van Cauwenberghe K. A., Grosjean D., Schmidt J. P., Fitz D. R., Beder Jr. W. L., Kudson G. B., Hynds P. M.: Atmospheric reactions of polycyclic aromatic-hydrocarbons – facile formation of mutagenic nitro-derivates. *Science* 202, 515 (1978).
7. Jager J.: Detection and characterization of nitro derivatives of some polycyclic aromatic hydrocarbons by fluorescence quenching after thin-layer chromatography: application to air pollution analysis. *J. Chromatogr.* 152, 575 (1978).
8. Rodriguez I., Llopart M. P., Cela R.: Solid-phase extraction of phenols. *Chromatogr A* 885, 291 (2000).
9. Laha S., Petrova K. P.: Biodegradation of 4-nitrophenol by indigenous microbial populations in Everglades soils. *Biodegradation* 8, 349 (1998).
10. Charvátová M.: *Bakalářská práce: Voltametrické stanovení 2-methoxy-5-nitrofenolu na stříbrné amalgámové elektrodě.* Karlova Univerzita v Praze, Přírodovědecká fakulta 2008.
11. http://www.agromanual.cz/download/pdf_bezpecnost/bl_atonik.pdf, staženo 19.2.2010.

12. http://www.agromanual.cz/download/pdf_etiketa/e_atonik.pdf, staženo 19.2.2010.
13. Babuška P.: Nové poznatky a zkušenosti s rostlinným stimulatorem ATONIK. Sborník „Řepka, Mák, Hořčice“, Arysta Agro Czech s. r. o., Praha (2003).
14. kolektiv autorů SRS: *Seznam registrovaných přípravků na ochranu rostlin*, Státní rostlinolékařská správa, Brno 2006.
15. Barek J., Ebertová H., Mejstřík V., Zima J.: Determination of 2-nitrophenol, 4-nitrophenol, 2-methoxy-5-nitrophenol, and 2, 4-dinitrophenol by differential pulse voltammetry and adsorptive stripping voltammetry. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 59, 1761 (1994).
16. Daňhel A., Shiu K. K., Yosypchuk B., Barek J., Pecková K., Vyskočil V.: The use of silver solid amalgam working electrode for determination of nitrophenols by HPLC with electrochemical detection. *Electroanalysis* 21, 303 (2009).
17. Lopez R., Echeleta E., Sanchez I., Cacho J., Ferreira V.: Analysis of the aroma intensities of volatile compounds released from mild acid hydrolysates of odourless precursors extracted from Tempranillo and Grenache grapes using gas chromatography-olfactometry. *Food. Chem.* 88, 95 (2004).
18. Ranau R., Kleeberg K. K., Schlegelmilch M., Streese J., Stegmann R., Steinhart H.: Analytical determination of the suitability of different processes for the treatment of odorous waste gas. *Waste Man* 25, 908 (2005).
19. Lopez R., Aznar M., Cacho J., Ferreira V.: Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A*, 966, 167 (2002).
20. Ezquerro O., Lopez G. A., Tena T. M.: Determination of 2,4,6-trichloroanisole and guaiacol in cork stoppers by pressurised liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1102, 18 (2006).
21. Ezquerro O., Tena T. M.: Determination of odour-causing volatile organic compounds in cork stoppers by multiple headspace solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. A* 1068, 201 (2005).
22. Zierler B., Siegmund B., Pfannhauser W.: Determination of off-flavour compounds in apple juice caused by microorganisms using headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 520, 3 (2004).

23. Vichi S., Romero A., Tous J., Tamames L. E., Buxaderas S.: Determination of volatile phenols in virgin olive oils and their sensory significance. *J. Chromatogr. A* 1211, 1 (2008).
24. Conde J. F., Alfonso M. A., Gonzalez V., Ayala H. J.: Optimization of an analytical methodology for the determination of alkyl- and methoxy- phenolic compounds by HS-SPME in biomass smoke. *Anal. Bioanal. Chem.* 385, 1162 (2006).
25. Boutou S., Chatonnet P.: Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine. *J. Chromatogr. A* 1141, 1 (2007).
26. Rocha M. S., Rodrigues F., Coutinho P., Delgadillo I., Coimbra A. M.: Volatile composition of Baga red wine Assessment of the identification of the would-be impact odourants. *Anal. Chim. Acta* 513, 257 (2004).
27. Bahceci S. K., Acar J.: Determination of guaiacol produced by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice by using HPLC and spectrophotometric method, and mathematical modeling of guaiacol production. *Eur. Food. Res. Technol.* 225, 873 (2007).
28. Fischer J., Vaňourková L., Daňhel A., Vyskočil V., Čížek K., Barek J., Pecková K., Yosypchuk B., Navrátil T.: Voltammetric determination of nitrophenols at a silver solid amalgam electrode. *Int. J. Electrochem. Sci* 2, 226 (2007).
29. J. Fry: *Electrochemistry of Nitrocompounds* (S. Patai, ed), Wiley, Chichester 1982.
30. Vaneerson Y., Smyth W. F.: *Electroanalysis in Hygiene, Environmental, Clinical and Pharmaceutical Chemistry* (Ed. Smyth, W. F.) Elsevier, Amsterdam (1980).
31. Kolthoff I. M., Ewing P. J.: *Treatise on Analytical Chemistry* 16, Vol. I I Interscience, New York (1980).
32. Brett C. M. A., Brett A. M. O.: *Electrochemistry. Principles, Methods and Applications*. Oxford University Press, Oxford 2003.
33. Wang J.: *Analytical Elektrochemistry*, 2nd Ed. VCH, Weinheim 2000.
34. Bard A. J., Faulkner L. R.: *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd Ed. John Wiley, New York 2001.

35. Vydra F., Štulík K., Juláková E.: *Rozpouštěcí polarografie a voltametrie*, SNTL, Praha 1977.
36. Wang J.: *Stripping Analysis*, VCH, Deerfield Beach, Florida 1985.
37. Víteček J., Petrlová J., Petrek J., Adam V., Potěšil D., Havel J., Mikelová R., Trnková L., Kížek R.: Electrochemical study of S-nitrosoglutathione and nitric oxide by carbon fibre NO sensor and cyclic voltammetry – possible way of monitoring of nitric oxide. *Electrochim. Acta* 51, 5087 (2006).
38. Petrlová J., Potěšil D., Mikelová R., Blašík O., Adam V., Trnková L., Jelen F., Průša R., Kukačka J., Kížek R.: Attomole voltammetric determination of metallothionein. *Electrochim. Acta* 51, 5112 (2006).
39. Kížek R., Vacek J., Trnková L., Jelen F.: Cyclic voltammetric study of the redox system of glutathione using the disulfide bond reductant tris(2-carboxyethyl)phosphine. *Bioelectrochemistry* 63, 19 (2004).
40. Čůta F., Popl M., Hejtmánek M., Karlík M., Ksandr Z., Kučera Z., Polej B., Volka K.: *Instrumentální analýza*, SNTL, Praha 1986.
41. Kaufman, Herman S. Falcetta, Joseph J.: *Introduction to polymer science and technology a SPE textbook*, John Wiley, New York (1977).
42. Novotný L., Yosypchuk B.: *Proc. J. Heyrovský Mem. Symp.* 52, Praha (2000).
43. Novotný L., Yosypchuk B.: Pevné stříbrné amalgámové elektrody. *Chem. Listy* 94, 1118 (2000).
44. Barek J., Fischer J., Navrátil T., Pěcková K., Yosypchuk B., Zima J.: Nontraditional electrode materials in environmental analysis of biologically active organic compounds. *Electroanalysis* 19, 2003 (2007).
45. Mikkelsen O., Schroder Kunt H.: Amalgam Electrodes for Electroanalysis. *Electroanalysis* 15, 679 (2003).
46. Yosypchuk B., Barek J., Fojta M.: Carbon powder based films on traditional solid electrodes as an alternative to disposable electrodes. *Electroanalysis* 18, 1126 (2006).
47. Seddom B. J., Osborne M. D., Lager G., Dryfe R. A. W., Loyall U., Shafer H., Girault H. H.: Micro-glassy carbon inks for thick-film electrodes. *Electrochim. Acta* 42, 1883 (1997).
48. Rumlová T.: *Bakalářská práce: Voltametrické stanovení 5-nitrochinolinu na uhlíkové filmové elektrodě*. Karlova Univerzita v Praze, Přírodovědecká fakulta 2009.

49. Sýkora V., Zátka V.: *Příruční tabulky pro chemiky* SNTL, Praha 1967.
50. Meloun M, Militký J.: *Statistické zpracování experimentálních dat na osobním počítači* FINISH, Pardubice 1992.
51. Zuman P.: Electroreduction of aromatic nitro compounds case for comparison of information obtained by polarography and voltammetry. *Collect Czech. Chem. Commun.* 58, 41 (1993).
52. Zuman P.: Polarografie při studiu chemických reakcí provázejících elektrodové děje. *Chem. Listy* 91, 91 (1997).